

N° D'ORDRE: 2542

N° DE SÉRIE 1676

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

THÉRÈSE FRÉMONT

INGÉNIEUR AGRONOME

1^{re} THÈSE. — EXTENSION DE TECHNIQUES EMPLOYÉES EN PATHOLOGIE ANIMALE A L'ÉTUDE DES RÉACTIONS DE LA CELLULE VÉGÉTALE A CERTAINES INFECTIONS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 décembre 1936 devant la Commission d'Examen.

MM. L. LAPICQUE. . . *Président.*
R. COMBES. . . *Rapporteur.*
Robert LÉVY. . . *Examineur.*

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT

1, RUE CASSETTE, 1

1936

N° D'ORDRE : 2542

N° DE SÉRIE 1676

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

THÉRÈSE FRÉMONT

INGÉNIEUR AGRONOME

1^{re} THÈSE. — EXTENSION DE TECHNIQUES EMPLOYÉES EN PATHOLOGIE
ANIMALE A L'ÉTUDE DES RÉACTIONS DE LA CELLULE VÉGÉ-
TALE A CERTAINES INFECTIONS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 17 décembre 1936 devant la Commission d'Examen.

MM. L. LAPICQUE. . . *Président.*

R. COMBES. . . . *Rapporteur.*

Robert LÉVY. . . . *Examineur.*

PARIS

IMPRIMERIE A. MARETHEUX ET L. PACTAT

4, RUE CASSETTE, 4

1936

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire. . . . M. MOLLIARD.
Doyen. C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

<i>Professeurs honoraires.</i>	{	H. LEBESGUE.	GOURSAT.	DANGEARD
		A. FERNBACH.	GUILLET.	JANET.
		A. LEDUC.	PECHARD.	LESPIEAU.
		Émile PICARD.	FREUNDLER.	MARCHIS.
		Rémy PERRIER.	AUGER.	VESSIOT.
		Léon BRILLOUIN.	BLAISE.	PORTIER.

PROFESSEURS

G. BERTRAND. T	Chimie biologique.	ROBERT-LÉVY.	Zoologie.
M. CAULLERY. T	Zoologie (Évolution des êtres organisés).	F. PICARD.	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
G. URBAIN. T	Chimie générale.	HENRI VILLAT. T	Mécanique des fluides et applications.
Émile BOREL. T	Calcul des probabilités et Physique mathém.	Ch. JACOB. T	Géologie.
Jean PERRIN. T	Chimie physique.	P. PASCAL. T	Chimie minérale.
H. ABRAHAM. T	Physique.	M. FRÉCHET. T	Calcul différentiel et calcul intégral.
E. CARTAN. T	Géométrie supérieure.	E. ESCLANGON. T	Astronomie.
M. MOLLIARD. T	Physiologie végétale.	M ^{me} RAMART-LUCAS. T	Chimie organique.
L. LAPICQUE. T	Physiologie générale.	H. BÉGHIN. T	Mécanique physique et expérimentale.
A. COTTON. T	Recherches physiques.	FOCH.	Mécanique expérimentale des fluides.
J. DRACH. T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	PAUTHENIER.	Physique (P. C. B.).
Charles FABRY. T	Enseignement de physique.	De BROGLIE. T	Théories physiques.
Charles PÉREZ. T	Zoologie.	CHRÉTIEN.	Optique appliquée.
Léon BERTRAND. T	Géologie structurale et géologie appliquée.	P. JOB.	Chimie générale.
E. RABAUD. T	Biologie expérimentale.	LABROUSTE.	Physique du Globe.
M. GUICHARD.	Chimie minérale.	PRENANT.	Zoologie.
Paul MONTEL. T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	VILLEY.	Mécanique physique et expérimentale.
P. WINTREBERT. T	Anatomie et histologie comparées.	BOHN.	Zoologie (P. C. B.).
L. BLARINGHEM. T	Botanique.	COMBES.	Botanique (P. C. B.).
O. DUBOSQ. T	Biologie maritime.	GARNIER. T	Mathématiques générales.
G. JULIA. T	Mécanique analytique et mécanique céleste.	PÈRES.	Mécanique théorique des fluides.
C. MAUGUIN. T	Minéralogie.	HACKSPILL.	Chimie (P. C. B.).
A. MICHEL-LÉVY. T	Pétrographie.	LAUGIER.	Physiologie générale.
H. BÉNARD. T	Mécanique expérimentale des fluides.	TOUSSAINT.	Technique aéronautique.
A. DENJOY. T	Application de l'analyse à la géométrie.	M. CURIE.	Physique (P. C. B.).
L. LUTAUD. T	Géographie physique et géologie dynamique.	G. RIBAUD. T	Hautes températures.
Eugène BLOCH. T	Physique théorique et physique céleste.	CHAZY. T	Mécanique rationnelle.
G. BRUHAT.	Physique.	GAULT.	Chimie (P. C. B.).
E. DARMOIS.	Enseignement de physique.	CROZE.	Recherches Physiques.
A. DEBIERNE. T	Physique générale et radioactivité.	DUPONT. T	Théories chimiques.
A. DUFOUR. T	Physique (P. C. B.).	LANQUINE.	Géologie.
L. DUNOYER.	Optique appliquée.	VALIRON.	Mathématiques générales.
A. GUILLIERMOND. T	Botanique.	BARRABÉ.	Géologie structurale et géologie appliquée.
M. JAVILLIER.	Chimie biologique.	MILLOT.	Zoologie (P. C. B.).
L. JOLEAUD.	Paléontologie.	F. PERRIN.	Théories physiques.
		VAVON.	Chimie organique.
		G. DARMOIS.	Calcul des probabilités et physique mathématique.

Secrétaire. A. PACAUD.
Secrétaire honoraire. D. TOMBECK.



A MA MÈRE

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR AINÉE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE DOCTEUR MARMIER

DIRECTEUR DE L'INSTITUT PASTEUR DE LILLE

A MONSIEUR LE DOCTEUR GRYSEZ

CHEF DE SERVICE A L'INSTITUT PASTEUR DE LILLE

A MONSIEUR M. LEMOIGNE

PROFESSEUR A L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE

En témoignage de sincère et respectueuse gratitude.



PLAN D'ENSEMBLE

AVANT-PROPOS	9
------------------------	---

I. — Partie bibliographique.

1° Différents types d'immunité végétale. Leurs analogies avec les types d'immunité connus chez les animaux	10
2° Revue des différentes hypothèses émises pour expliquer les mécanismes d'immunité chez les végétaux	15

II. — Partie expérimentale.

Recherche et mise en évidence des facteurs humoraux de l'immunité	37
1° <i>Réactions des plantes inoculées ou infectées de cultures bactériennes</i>	37
A. — Préparation du matériel d'expérience	37
Choix du matériel d'expérience.	37
Inoculation	38
Extraction du suc cellulaire	41
B. — Étude du matériel d'expérience	43
Recherche des agglutinines.	43
Recherche des précipitines	54
Recherche des lysines.	57
<i>In vitro</i> : a) Déviation du complément ; b) Constatation de l'action bactériolytique	57
<i>In vivo</i> : Dans le sérum d'animaux préparés soit par inoculation d'extraits de plantes dans les veines, soit par ingestion de cet extrait.	62

2° <i>Étude des réactions de la plante à des toxines bactériennes.</i> .	82
Présence de précipitines dans le suc des plantes croissant dans des milieux additionnés de cultures bactériennes.	82
Mise en évidence des propriétés antitoxiques des suc d'oignons croissant en milieux additionnés de toxines bactériennes.	84
3° <i>Étude des réactions de la plante à des inoculations d'oval- bumines.</i>	91
4° <i>Mise en œuvre des anticorps élaborés par des plantes.</i>	92
Action exercée par la plante sur les germes non patho- gènes.	92
Défense des épidermes végétaux	95
CONCLUSIONS	101

AVANT-PROPOS

Le but de ce travail a été d'étudier les réactions de la cellule végétale parasitée à la lueur des connaissances acquises dans le domaine de l'immunologie animale.

La connaissance des mécanismes de résistance de la cellule végétale, longtemps réduite, comme le montrera la revue des travaux sur l'immunité chez les plantes, à des données morphologiques et anatomiques, pouvait bénéficier, nous semblait-il, de l'application méthodique des techniques employées journellement en pathologie humaine.

Les résultats de nos expériences nous ont conduits, comme on le verra, à rapprocher beaucoup de manifestations de résistance de la cellule végétale, de phénomènes déjà connus en pathologie animale. Ils nous permettent de conclure à des analogies très grandes, en dépit des apparences, entre le comportement de la cellule animale et celui de la cellule végétale.

Et l'intérêt de constater l'unité des manifestations du monde biologique n'a pas été un des moindres mobiles qui nous ait guidés dans ce travail.

EXTENSION DE TECHNIQUES
EMPLOYÉES EN PATHOLOGIE ANIMALE

A L'ÉTUDE DES

RÉACTIONS DE LA CELLULE VÉGÉTALE
A CERTAINES INFECTIONS

PREMIÈRE PARTIE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE ET HISTORIQUE

1^o ÉTUDE DES DIFFÉRENTS TYPES D'IMMUNITÉ
CONNUS CHEZ LES VÉGÉTAUX

(Leurs analogies avec les types d'immunité connus chez les animaux.)

Les exemples d'immunité sont très fréquents chez les végétaux, qu'il s'agisse d'un individu résistant au milieu d'une population de plantes de la même espèce qui, toutes, se sont montrées réceptives, ou d'une espèce ou d'une variété que nous savons résistante à un parasite, alors que l'espèce ou la variété voisine ne l'est pas.

Nous pouvons retrouver, dans ces nombreux exemples, les différents types d'immunité connus chez les animaux :

I. — *L'immunité essentielle ou naturelle*, telle que la définit Ch. Nicolle (1) est l'immunité du Pommier, par

(1) Propositions générales pour une dénomination plus précise en français des états et faits concernant l'immunité. Ch. Nicolle : *Revue d'immunologie*, 1, n° 3, Mai 1935. *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*, 24, n° 3 et 4, 1935, pp. 513-524.

exemple, au champignon de la tavelure du Poirier (*Venturia pirina*), ou l'immunité du Poirier vis-à-vis du champignon de la tavelure du Pommier (*Venturia inaequalis*). Ces cas d'immunité correspondent bien à ce que définit Nicolle sous ce terme : « Un état de résistance constitutionnel qui est la résistance d'une espèce à un agent infectieux ou toxique pour d'autres espèce. Cet état réfractaire que tous les exemplaires de l'espèce portent en eux au premier jour, ils le conservent durant toute leur vie. Il est de leur essence. »

II. — *L'immunité acquise*, est ainsi définie par Ch. Nicolle : « état réfractaire consécutif à une atteinte soit naturelle, soit expérimentale de la maladie, ou bien à l'introduction dans l'organisme de substances protectrices vis-à-vis de cette maladie ». C'est le cas, par exemple, de la cellule à mycorhizes de la racine d'Oranger qui est presque invariablement infectée par l'endophyte lorsqu'elle est encore incluse dans la zone méristématique : elle présente, après infection, des réactions d'immunité et s'affranchit de toute symbiose au moment où commencent à apparaître les premières formations secondaires dans la zone où elle est incluse : « La cellule à mycorhizes constitue un exemple de résistance qui se développe après un état de réceptivité extrême. » (1)

C'est le cas, encore, du Bégonia qui, infecté une première fois d'une forme peu virulente de *Botrytis cinerea*, réagit, se guérit, et devient incapable d'héberger dorénavant l'hyphe mycélien du *Botrytis cinerea* causant la maladie de la Toile.

La *prémunité*, « cas spécial, écrit Nicolle, de l'immunité acquise » est exactement l'immunité du *Phalenopsis* vis-à-vis du *Rhizoctonia mucoroïdes*.

« On désigne sous le nom de prémunité, écrit Nicolle, une forme particulière de résistance qui se manifeste vis-à-vis de certaines infections, tant que leur agent causal se maintient vivant dans l'organisme, sous une forme inoffensive ou peu offensive. Cet état réfractaire, plutôt fragile, cède dès que l'agent pathologique vient à disparaître de chez son hôte. » En médecine humaine, le meilleur exemple de prémunité que

(1) H. S. Reed et Th. Frémont : Etude physiologique de la cellule à mycorhizes dans les racines de Citrus, *Revue de cytologie et de cytophysiologie végétales*, I, fasc. 4, 1935, pp. 327-348.

l'on puisse donner est celui de l'immunité assurée à l'organisme humain par le BCG. L'organisme vit, dans ce cas, en symbiose avec le bacille de la tuberculose modifié et devenu avirulent, qu'on lui fait ingérer ou qu'on lui injecte. Aussi longtemps que cette symbiose existe, l'organisme ne se laisse plus envahir par un autre bacille, virulent ou non, qui est éliminé aussitôt qu'il a pénétré dans l'intimité des tissus.

Or, dans le cas du *Phalenopsis*, cité plus haut, la plante subit dès sa germination l'infection par le champignon endophyte qu'elle héberge généralement (*Rhizoctonia mucoroides*). Noël Bernard a montré que le succès de la germination dépendait de l'établissement d'une association entre une plantule susceptible et un champignon peu virulent. Dans ce cas seulement la graine amène à bien la production de la plantule. Et le *Rhizoctonia* subsiste dans la plante qui se développe. Un certain territoire de cellules reste infecté pendant toute la vie de la plante, mais le sommet végétatif reste libre de toute infection et Noël Bernard écrit à ce propos :

« L'immunité dans la symbiose chez les Orchidées a tous les droits d'être considérée comme la forme la plus parfaite d'immunité acquise qu'on puisse imaginer. »

Remarquons que l'on peut encore, chez les végétaux, établir une distinction entre les cas d'immunité acquise consécutive à une infection spontanée (cas de la cellule à mycorhizes du Citrus cité plus haut), et les cas d'immunité acquise à la suite d'une inoculation expérimentale (plantules de Bégonias immunisées contre la maladie de la « toile », grâce à une infection expérimentale préalable par une race peu virulente de *Botrytis*). Peu de travaux ont porté sur des essais d'immunisation de plantes au moyen d'inoculation de substances protectrices élaborées par un autre organisme. On peut citer pourtant quelques expériences négatives de greffe et les travaux de Manil sur l'immunisation d'une zone, d'ailleurs très localisée, de pieds de Tabac (Var. Herzégovine) contre *B. Tabacum*.

On peut d'ailleurs remarquer que l'étude de l'immunisation chez les végétaux (immunité provoquée par une méthode expérimentale) est sans doute très en retard sur l'étude de l'immunisation chez les animaux, parce qu'elle présentait un

faible intérêt économique. Tous les problèmes de la pathologie végétale tendent à se résoudre par l'emploi raisonné des méthodes de la génétique (création de plantes douées d'immunité essentielle) ; l'étude de l'immunisation chez les végétaux a un intérêt presque purement scientifique de pathologie comparée.

Nous avons groupé les différents types d'immunité végétale connus, sous les rubriques de la classification établie par Ch. Nicolle.

Comme toute classification, celle-ci est arbitraire. Toutes les transitions existent entre les cas d'immunité strictement naturelle et des cas d'immunité acquise.

D'ailleurs, pour Maurice Nicolle, on ne peut parler que d'une sorte d'immunité. La distinction entre immunité naturelle et immunité acquise étant purement artificielle, l'une et l'autre s'exerçant par des mécanismes identiques.

Ce sont, dans les deux cas, suivant M. Nicolle, les anticorps qui jouent le rôle essentiel dans la destruction des micro-organismes parasites. « Ces anticorps spécifiques normaux ne sont pas décelables dans le sérum des sujets réfractaires. Leur absence, selon Nicolle, n'est qu'une apparence due à l'imperfection de nos méthodes d'investigation. Chez les animaux immunisés (ou guéris d'une infection naturelle), les anticorps paraissent, à la longue, s'évanouir. Ils n'en persistent pas moins aussi longtemps que l'immunité acquise dont ils constituent le support, et il suffit d'une nouvelle infection pour en déterminer une abondante production. Cette manière logique d'expliquer la résistance acquise, en l'absence apparente d'anticorps est applicable aussi à l'immunité naturelle dont elle peut fournir une interprétation simple et claire. »

La résistance du châtaignier japonais au *Blepharospora cambivora* a pu, à l'origine, être acquise par quelques individus qui la transmirent à leur descendance qui possède, à l'heure actuelle, une résistance naturelle.

Les mécanismes d'immunité sont les mêmes dans les deux cas. Nous exposerons les travaux concernant l'immunité chez les végétaux et les hypothèses émises pour expliquer son mécanisme, dans l'ordre chronologique. Nous verrons que ces

travaux d'abord morphologiques, ont de plus en plus tendance, actuellement, à rechercher dans les réactions cellulaires, les facteurs de l'immunité.

2° REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DES TRAVAUX SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ CHEZ LES VÉGÉTAUX

a) Plan d'ensemble.

L'étude des mécanismes assurant l'immunité chez les végétaux n'a été entreprise que depuis peu de temps. La pathologie végétale est une science jeune, et s'est, pendant longtemps, attachée à des études morphologiques. Il a fallu connaître exactement la nature des ennemis de la plante avant d'aborder l'étude des tactiques de défense de la cellule végétale.

Les premières recherches concernant les réactions d'immunité ont donc surtout étudié la morphologie des lésions et les auteurs ont pensé que des conformations anatomiques variables pouvaient expliquer divers cas de résistance ou de susceptibilité des plantes.

Nous passerons rapidement en revue, dans une première partie, les principaux cas où il est évident que des facteurs morphologiques assurent la résistance de la plante. Mais cette première explication des phénomènes d'immunité, donnée par l'étude anatomique de la zone envahie par le parasite, s'est bientôt avérée comme insuffisante.

L'étude morphologique de la cellule, facilitée par les progrès des techniques de cytologie végétale, a fourni d'autres données sur les mécanismes de résistance et a fait faire un grand pas à nos connaissances de pathologie cellulaire. Nous analyserons ces travaux de cytopathologie végétale dans une seconde partie.

L'importance de ces travaux se double du fait qu'ils ont appelé l'attention sur l'importance de certaines substances chimiques (composés phénoliques par exemple) dans les phé-

nomènes de résistance. Certains auteurs ont essayé de rechercher dans les extraits de plantes résistantes ou susceptibles, la présence de composés chimiques définis qui expliqueraient leur comportement vis-à-vis des parasites. Nous exposerons ces travaux dans une troisième partie.

Ces différents groupes d'études, effectués en vue d'expliquer les mécanismes de l'immunité végétale, se sont tous les trois révélés insuffisants :

Que la plante fabrique une barrière de liège entre les tissus parasités et les tissus sains n'indique pas comment et à la suite de quelles modifications cellulaires ce changement anatomique prend place.

Que la cellule parasitée accumule dans son suc vacuolaire des composés phénoliques en quantités anormales n'explique pas par quel mécanisme se fait cette accumulation, mais cette constatation fait soupçonner que le métabolisme cellulaire est profondément modifié et que d'autres substances non décelables par des études morphologiques ou biochimiques, peuvent se former.

La découverte de véritables cas de vaccination de la plante a renforcé cette dernière hypothèse. Une plante infectée une première fois par un champignon devient réfractaire à toute injection postérieure par le même parasite. C'est donc que la plante ne possède plus la même composition cellulaire. Elle a fabriqué des substances « antiparasites », persistant pendant un certain temps.

Nous analyserons dans le paragraphe suivant les divers travaux concernant la vaccination. Leur étude, tout naturellement, amène à la conception des « anticorps » chez les végétaux.

Nous étudierons en détail, dans le dernier paragraphe de cette revue, les diverses données que l'on possède sur ce sujet.

b) Exposé des travaux sur l'immunité chez les végétaux.

ÉTUDE DES FACTEURS MORPHOLOGIQUES ASSURANT L'IMMUNITÉ.

Il existe, dans certains cas, une relation certaine entre l'intensité de l'infection d'une plante par un parasite et le nombre de stomates de ses feuilles. On sait, par exemple, que le champignon du mildew de la Vigne (*Peronospora viticola*) ne pénètre la feuille que par l'ouverture stomatique. Nul doute, donc, qu'il puisse y avoir une certaine résistance de la part de la plante quand le nombre des stomates est moins grand ou l'ouverture rétrécie.

L'épaisseur de la cuticule des cellules de l'épiderme joue également un rôle important dans la protection des feuilles. Les recherches de Melander et de Craigié sur les feuilles de *Berberis* ont démontré que l'infection par le champignon de la rouille était très atténuée dans le cas où la cuticule était épaisse.

Les barrières de liège qui isolent les lésions causées par un parasite du reste de la plante saine (cas des vignes résistantes au Phylloxéra), assurent également la résistance par suite de l'obstacle physique opposé à la progression du parasite. Ce cas, souvent cité comme exemple de la résistance mécanique de la plante à l'infection, se complique sans doute d'une résistance plus générale de la plante. La formation de la barrière de liège n'est que l'aboutissant d'une réaction humorale de la plante, développée sous l'influence des poisons et substances irritantes émises par l'insecte ou par le champignon parasite.

RECHERCHE CYTOLOGIQUE

FACILITANT L'ÉTUDE DES MÉCANISMES DE L'IMMUNITÉ.

La cytologie végétale, par une étude précise de la morphologie de la cellule et de ses inclusions, a approché de plus près le mécanisme de l'immunité végétale.

Dufrénoy, qui a étudié la pathologie de la cellule parasitée

ou carencée, définit de la sorte les possibilités, mais aussi les limites de la cytologie :

« L'étude cytochimique nous renseigne sur les corps figurés et les interphases immédiatement accessibles à l'observation cytologique de la cellule vivante ; elle doit être complétée soit par l'étude des réactions physiques et chimiques des divers constituants de la cellule, soit par l'étude des modifications de structure colloïdale (perte de charge, floculation), soit par la localisation cytochimique des corps en solution ou en suspension dans les solutions vacuolaires, ou des corps engagés dans les combinaisons si complexes que représentent le cytoplasme, les mitochondries, les plastes et le matériel nucléaire. »

Et encore :

« C'est en rendant accessible à nos sens les modifications des surfaces limitantes du cytoplasme, par des modifications de forme et de nature des inclusions cytoplasmiques que la cytologie nous renseigne sur les modifications physiologiques et pathologiques cellulaires. »

Ses travaux établissent que les symptômes de souffrance d'une cellule présentent toujours une grande identité entre eux : Autour du filament mycélien parasite, ou dans le territoire cellulaire envahi par un virus, le système vacuolaire se fragmente en un grand nombre de très petites vacuoles séparées par des trabécules cytoplasmiques. Les surfaces de contact « vacuole-cytoplasme » où se développent les phénomènes vitaux augmentent exagérément, amènent le développement de phénomènes respiratoires plus intenses et une véritable fièvre végétale. On peut souvent, par des méthodes microchimiques appropriées, mettre en évidence, dans ces zones, des processus de protéolyse. Cette vacuolisation et cette protéolyse semblent également affecter l'extrémité du parasite.

Les mitochondries subissent une altération (on observe en général un plus grand nombre de mitochondries granuleuses) et elles s'alignent au long des trabécules cytoplasmiques. Les amyloplastes se bourrent de grains d'amidons. Et, phénomène intéressant parce qu'il confirme en partie les travaux que nous avons cités tout au début de ce chapitre sur le rôle des tanins dans la défense des plantes, les composés phéno-

liques s'accumulent dans les vacuoles et se précipitent au moment de la fixation par les fixateurs chromés.

Nous disons « en partie », car s'ils apparaissent toujours ou presque toujours dans le cas d'une réaction de défense d'une zone parasitée, ils peuvent se former également si la cellule souffre d'une carence alimentaire quelconque. Ils sont abondants, par exemple, dans les cellules de la racine de *Citrus* infectée par un endophyte, mais on les trouve aussi abondants dans des jeunes plants de *Citrus* poussant en conditions parfaitement stériles, dans du sable non fertilisé.

Néanmoins, ils semblent liés, dans certains cas, aux phénomènes de résistance de la cellule.

Dufrénoy, entre beaucoup d'autres, cite le cas des Haricots infectés de *Colletotrichum Lindemuthianum*. Dans le cas de races susceptibles, les cellules infectées de filaments mycéliens restent vivantes et développent un grand nombre d'amyloplastés bourrés de grains d'amidon. Des cellules voisines accumulent en grande quantité les composés tanniques et ne sont pas pénétrées par les filaments mycélien. Or, dans le cas de Haricots résistants, la production de cellules à tanin est beaucoup plus considérable.

EXPLICATION CHIMIQUE DU MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ VÉGÉTALE.

Melville Thurston Cook, dès 1911, persuadé que la résistance de certaines plantes aux parasites réside dans la constitution biochimique de l'espèce, cherche à isoler la ou les substances défavorables à la pénétration du champignon dans la cellule. Il observe que le groupe des tanins est presque toujours associé aux réactions pathologiques d'une plante (galle des insectes, lésions aux écorces des arbres, etc.). Et il se demande si le tanin ne constitue pas un des *anticorps* produits par la plante (il emprunte ce mot à Marshall Ward qui l'emploie dès 1905). Pour lui, d'ailleurs, le mot « anticorps » a un sens différent de celui qu'il a en pathologie animale où il désigne une substance spécifique élaborée par un organisme réagissant à l'action d'une substance étrangère dite « antigène ».

Lorsqu'il fait croître, en effet, différentes souches de

champignons sur des milieux additionnés de tanin, il observe que la croissance des champignons est gênée par la présence de ce groupe de substances. L'acide tannique des végétaux est transformé en tanin par une enzyme (oxydase) présente dans les mêmes tissus. Le tanin est toujours plus toxique que l'acide tannique.

Thornberry établit également par des expériences *in vitro* que l'acide tannique a un effet inhibitoire temporaire sur le virus de la mosaïque du Tabac.

Angell, Walker et K. P. Link, ont établi que les extraits d'écaillés jaunes d'Oignons étaient riches en acides protocatéchique. Cet acide est toxique vis-à-vis des champignons qui causent habituellement la pourriture des Oignons (*Colletotrichum circinans*, en particulier). Or, on sait que les variétés d'Oignons jaunes (donc recouvertes d'écaillés riches en acide protocatéchique) sont beaucoup plus résistantes aux différentes pourritures que les Oignons blancs. Il semble donc qu'il y ait dans ce cas, une relation entre la résistance de la plante et la présence de l'acide cité.

Dufrénoy, dans son étude cytologique de la pathologie cellulaire, a indiqué la grande abondance des composés phénoliques dans les cellules malades.

Il y a donc lieu de penser qu'il existe un lien entre le grand groupe des tanins végétaux et la tactique de défense de la plante en danger. Pourtant cette explication est insuffisante : Bien des plantes très riches en tanins sont infectées de parasites ou de symbiotes, et force nous est d'invoquer encore d'autres mécanismes de résistance.

A la suite de ces travaux sur l'influence de la composition chimique de la plante sur l'immunité, nous citerons ceux qui ont indiqué l'influence de la nutrition sur la résistance à l'infection.

On sait depuis longtemps que la nutrition de la plante a une grande influence sur sa susceptibilité aux maladies et de nombreuses études ont été faites pour indiquer le parallélisme existant entre les carences ou les déséquilibres alimentaires et la résistance ou susceptibilité de la plante.

Les recherches de Laurent et celles de Lepoutre font autorité dans la matière.

Laurent, expérimentant avec le *B. coli communis* (qui n'est pas parasite des plantes dans les conditions ordinaires), observe que des Pommes de terre préalablement plongées dans des solutions alcalines peuvent cependant l'héberger et pourrissent rapidement. La Pomme de terre a, en effet, dans ces conditions, une vitalité affaiblie ; ses mécanismes de défense en sont réduits d'autant, et des microbes, normalement saprophytes, arrivent à la parasiter.

Un phénomène semblable, sans doute moins exagéré, peut s'observer dans la nature, sous l'influence d'emploi mal raisonné d'amendements (trop forte dose de chaux, par exemple).

Lepoutre reprend ces travaux et élargit les conclusions de Laurent. Dans certains cas déterminés (résistance des Carottes et des Navets au *B. mycoïdes et mesentericus*), il établit qu'un excès d'engrais azoté ou un excès de chaux prédispose à la pourriture, tandis que les phosphates augmentent la résistance.

Retenons surtout qu'il y a lieu, avant de juger des différences de résistance essentielle entre certaines espèces, de tenir compte très soigneusement des conditions de nutrition des individus en expérience.

En pathologie végétale, comme en pathologie animale, la question du « terrain » peut expliquer le succès ou l'échec de beaucoup d'infections. Mais là encore n'est pas l'explication du mécanisme ultime de la résistance de la cellule végétale.

Aussi claires que soient les théories qui veulent attribuer à un groupe de facteurs mécaniques ou chimiques non spécifiques la résistance des plantes à l'infection parasitaire, on s'est vite rendu compte qu'ils n'étaient pas les seuls agents de l'immunité et que les découvertes de l'école pastorienne dans le domaine de l'immunologie animale pouvaient aussi jeter quelques clartés sur le problème de l'immunité chez les végétaux.

Le mécanisme humoral, celui qu'étudie le présent travail, a été suggéré par les exemples que nous allons exposer, de vaccination des plantes.

REVUE DES DIFFÉRENTS TRAVAUX SUR LA VACCINATION
CHEZ LES VÉGÉTAUX.

Le phénomène de la vaccination des plantes, si semblable dans ses manifestations à la vaccination des animaux, est sans doute celui dont l'étude a suggéré le plus fortement aux botanistes l'analogie des réactions d'immunité dans les deux règnes.

Il est certainement connu depuis fort longtemps. On sait que, dans les pays d'origine des différents parasites, les espèces auxquelles ils s'attaquent sont généralement douées d'une certaine résistance vis-à-vis d'eux. Les vignes américaines sont résistantes au *Phylloxéra*, originaire d'Amérique. Les Châtaigniers japonais sont résistants au *Blepharospora Cambivora*, originaire de l'Orient. Or, l'apparition d'espèces résistantes dans une contrée dévastée par un parasite est sans doute due originellement à un phénomène de vaccination spontanée ; des individus susceptibles à ce parasite ont développé à son contact une certaine résistance, ont engendré des descendants plus résistants qu'eux, et c'est ce qui a fini par produire l'immunité naturelle observée aujourd'hui.

C'est en 1901 que Beauverie publie son expérience célèbre de vaccination de bégonias contre le champignon de la « toile ».

Il démontre au préalable que la maladie de la « toile » connue en serre et sous châssis sur les cultures forcées est causée par une forme stérile du *Botrytis cinerea*. Le *Botrytis cinerea* (sous sa forme fructifère) est, lui, complètement inoffensif aux jeunes semis. On obtient la forme « toile » en se plaçant aux environs de 30° dans un état hygrométrique voisin de la saturation, sur un milieu médiocrement nutritif. La forme « *Botrytis cinerea* », fructifère se rencontre dans la nature sur les végétaux en décomposition. Or, il se trouve qu'il existe une forme intermédiaire qui se produit vers 15-20° dans les serres très humides, mais aérées. Cette forme est presque inoffensive.

Beauverie met des boutures de Bégonias à végéter dans la terreensemencée avec cette forme intermédiaire. Elles ne présentent que très peu de symptômes de souffrance. Si on provoque ensuite, par une température et une hygrométrie appropriées, la formation de la toile, les boutures de Bégonias résis-

tent à cette forme de *B. cinerea* plus virulente : elles sont vaccinées.

La technique suivie est identique à celle employée en pathologie animale, où l'on peut soumettre, par exemple, l'animal, en vue de le vacciner, à des injections successives de cultures tuées, puis atténuées, puis vivantes.

De nombreux auteurs ont ensuite répété des expériences analogues avec des plantes et des champignons différents.

Zoja réussit des vaccinations de Blé contre l'*Helminthosporium salivum* en faisant germer les graines dans des extraits aqueux de culture de parasite, après transplantation dans de la terre ; elle inocule les plantules avec le champignon, et observe que les plantes traitées sont douées d'immunité.

Sieden et Trieschman inoculent à des tubercules de Pommes de terre saines, 1 cent. cube de filtrat d'extrait aqueux de Pomme de terre atteinte du chancre. Après quinze jours, ils sèment les tubercules ainsi traités de même que des tubercules témoins non traités, dans un champ infecté. A la récolte, ils observent que les tubercules traités ont montré vis-à-vis du chancre, une résistance nettement supérieure à celle des témoins.

Nobécourt immunise des Haricots contre la « toilé » par arrosage de plantules avec le liquide de culture du champignon. Il immunise également des Fèves contre le *B. carotovorus* en injectant dans leur canal médullaire, des filtrats de culture de *B. carotovorus*.

Arnaudi rapporte la résistance à la superinfection de Géraniums inoculés de *B. tumefaciens*. Des Géraniums porteurs de tumeurs récentes semblent présenter une certaine résistance à toute infection postérieure de *B. tumefaciens*. Mais cette résistance est sans doute localisée à la zone voisine de la tumeur ancienne. Il coupe un rameau en deux parties qu'il remet en communication au moyen d'un tube de caoutchouc rempli d'eau distillée ; il observe que s'il inocule avec *B. tumefaciens* un des fragments, tandis que l'autre porte une tumeur, l'inoculation reste sans succès. Arnaudi voit là une confirmation à l'hypothèse de la nature humorale de cette immunité.

Nemec cite le cas intéressant du *Bacille pyocyaneus*. Il n'est pas parasite, mais sa toxine appliquée sur des blessures ou

injectée à la plante produit la mort locale des tissus et peut même entraîner la mort de la plante. Dans le cas où il inocule la moitié seulement d'une feuille, cette moitié meurt après vingt-quatre heures ; s'il inocule ensuite la seconde moitié, elle meurt après soixante-douze heures. Il y a donc un début d'immunité acquise des tissus immédiatement voisins de la lésion, soit par suite de la diffusion de faibles quantités de toxines vers ces tissus laissés intacts qui élaborent consécutivement des anticorps, soit par suite de la diffusion d'anticorps de la zone souffrante vers la zone saine.

Georghiu étudie l'infection de *Pelargonium zonatum* par *B. tumefaciens*. Il prépare un « vaccin » en chauffant à 60° une suspension de culture jeune de *B. tumefaciens* sur gélose jusqu'à complète inactivation des éléments microbiens. Puis il inocule ce « vaccin » à *Pelargonium zonatum* dans le double but :

1° de voir si les plantes peuvent être prémunies contre toute infection postérieure de *B. tumefaciens* ;

2° si les plantes infectées (la tumeur étant en évolution) peuvent être guéries.

De ses expériences, l'auteur conclut que l'on peut prémunir *P. zonatum* contre le *B. tumefaciens*, et que la plante atteinte de tumeur peut être guérie. Le pouvoir du vaccin est strictement spécifique.

Il attribue cette vaccination à la formation « d'anticorps » chez la plante, mais n'arrive pas, toutefois, à les mettre en évidence par les techniques d'agglutination, de précipitation, d'hémolyse ou de fixation du complément.

Price cite un cas intéressant d'immunité acquise dans le cas de différentes variétés de Tabacs primitivement atteintes du virus causant le « ring spot ». Tout essai d'inoculation postérieure reste vain. La plante est bien immunisée. Cette immunité persiste dans les plantes filles issues de la plante mère par bouture, mais ne se transmet pas par graine. Si on greffe des plantes non immunisées sur des sujets qui le sont, on n'observe pas le passage de l'immunité de l'une à l'autre des plantes. Price en conclut, sans doute sans raisons suffisantes, à l'absence « d'anticorps » dans la plante immunisée.

Salaman constate que le virus X de la Pomme de terre est capable de présenter une virulence extrêmement variable. Sui-

vant les cas, ce virus provoque des taches jaunes ou vertes sur les feuilles. S'il prélève du virus dans les parties vertes des taches et qu'il inocule une plante avec ce virus, il obtient la forme atténuée de la maladie (taches vertes). S'il prélève du virus dans les parties jaunes, il obtient le type sévère de l'infection.

Or, s'il reprend les plantes inoculées du virus des taches vertes, et qu'il essaie de les contaminer avec le virus des taches jaunes, il n'y réussit jamais : la plante est vaccinée, ou protégée contre toute infection postérieure par un virus de nature voisine et plus virulent :

C'est encore une sorte de « prémunit ».

Kunkel rapporte un fait analogue, bien que dans ce cas il ne s'agisse pas à proprement parler de « vaccination », puisque les deux virus sont aussi virulents l'un que l'autre. Il s'agit de deux virus causant sur le Pêcher les maladies connues en Amérique sous le nom de « yellow » et de « little peach ». Si un arbre est atteint de l'un de ces virus, tout essai d'infection par l'autre virus restera vain. L'un quelconque de ces virus « prémunit » contre l'autre.

L'école italienne qui, par ailleurs, nie la formation de vrais anticorps chez les plantes, a étudié une série de cas de vaccination de plantes.

Nous avons déjà cité les travaux de Zoja sur la vaccination du Blé contre l'helmintosporiose.

Carbone et Kalajev rééditent les travaux de Nobécourt sur *Phaseolus vulgaris* vacciné contre la « toile » par des extraits de *Botrytis cinerea*. Ils en confirment les résultats.

Carlo Arnaudi vaccine des pieds de *Nicotiana tabacum* contre *Thielaviopsis basicola*, en appliquant sur de jeunes semis des cultures de champignons tués par la chaleur ou par l'éther. Ces travaux ont d'ailleurs été très discutés.

Kunkel cite encore un cas de vaccination de Tabac et d'Aucuba contre les races virulentes de virus après une application de virus d'une forme atténuée. Les feuilles doivent d'ailleurs être très fortement inoculées si l'on désire une immunisation complète et la réaction d'immunité est très localisée.

Baldacci et Birkeland seuls citent des expériences où des essais de vaccination sont restés sans résultat.

De telles expériences qui ont conduit à un résultat négatif n'enlèvent rien à la valeur de celles qui, au contraire, ont montré la possibilité pour des plantes inoculées avec un parasite de forme atténuée peu virulent, et qui ont résisté à son action, de se montrer ensuite réfractaires à l'inoculation d'un même parasite de virulence beaucoup plus forte. C'est là le type même de la vaccination, telle qu'on la connaît dans le règne animal.

Nous allons voir, maintenant, comment peu à peu cette notion de l'anticorps s'est précisée dans l'esprit des phytopathologistes.

REVUE DES TRAVAUX SUR LES ANTICORPS CHEZ LES VÉGÉTAUX.

En 1905, Marshall Ward écrit : « La résistance chez les
« plantes n'a rien à faire avec l'anatomie, mais dépend entiè-
« rement des réactions physiologiques du protoplasme du
« champignon et des cellules de l'hôte. En d'autres termes,
« l'infection et la résistance à l'infection dépendent du pou-
« voir du protoplasme du champignon à surmonter la résis-
« tance des cellules de l'hôte au moyen d'enzymes ou de
« toxines ; et réciproquement du pouvoir du protoplasme de
« la cellule de l'hôte à former des anticorps qui détruisent
« ces enzymes ou ces toxines, ou à sécréter des substances
« chimiotactiques qui attirent ou repoussent le protoplasme
« fongique. »

En 1906, c'est Schiff-Giornini qui, le premier, exprime l'idée que les phénomènes récemment connus d'agglutination, de précipitation, de lyse peuvent peut-être s'observer chez les plantes, aussi bien que chez les animaux.

Il étudie, pour vérifier cette hypothèse, l'extrait d'Olivier atteint de tumeurs causées par *B. oleæ*.

Il observe que le suc des cellules entourant la tumeur possède des propriétés lytiques et agglutinantes vis-à-vis du *B. oleæ*. Ces propriétés disparaissent par chauffage.

Mais, malgré cette priorité, c'est Noël Bernard qui a, le premier, formulé de façon hardie l'analogie entre les réactions des végétaux et celles des animaux. Il étayait son hypothèse

sur des observations et des expérimentations précises qu'il avait faites au cours de ses études sur les Orchidées et leurs champignons commensaux.

Dans les tissus des embryons des Orchidées, les Rhizoctones se pelotonnent dans chaque cellule au lieu de progresser en ligne droite. « Il ne s'agit pas là, dit-il, de contrainte mécanique. Le plus vraisemblable est d'y voir un phénomène analogue à celui de l'agglutination des bactéries, le pelotonnement constant des Rhizoctones dans les tissus des Orchidées serait en ce cas, dû à une propriété agglutinative de la sève intracellulaire des plantes ».

Appliquant au monde végétal les théories de Metchnikoff, il décrit : « Dans les tissus infestés des Orchidées, on observe communément la digestion des pelotons intracellulaires, phénomène que je compare à la phagocytose ; toutes les cellules n'ont pas de propriétés digestives : à la marge des régions infestées, on constate des cellules qui demeurent infectées ».

Mais il ajoute : « Dans la symbiose, la phagocytose semble « avoir un rôle subordonné comme moyen de défense, l'immunité persistante du sommet végétatif paraissant due à « l'agglutination constante des champignons en arrière de lui, « c'est-à-dire, probablement, à une propriété humorale ».

N. Bernard meurt en 1911. Après lui, commence la série des travaux qui confirment ses hypothèses.

Wagner, en 1915, expérimente sur la Pomme de terre et la betterave à sucre qu'il infecte de *B. vulgatus putridus* et *asterasporus*.

La plante vivante, observe-t-il, est capable de résister à une certaine quantité de bactéries. Or, s'il étudie les propriétés des extraits des plantes, il établit que le suc de la plante saine agglutine et met en lyse certaines bactéries et que, durant le cours d'une maladie parasitaire, le pouvoir lytique s'accroît.

Piccado, en 1921, par une série d'expériences remarquables, provoque, par inoculation des protéines étrangères (pollen de maïs), la formation d'agglutinines et de lysines dans des cladodes d'*Opuntia*, et les met en évidence de façon très nette.

Ces agglutinines et ces lysines sont spécifiques. Il échoue à les mettre en évidence dans le cas d'inoculation de globules rouges ou de levures. Il n'observe que des agglutinines et pas

de lysines s'il inocule des grains de pollen de *Coix* et de *Sorghum*.

Nobécourt, en 1923, reprenant une expérience de Noël Bernard, parle d'anticorps dans le cas d'une sécrétion « humorale » de bulbes d'Orchidées.

De gros morceaux de tubercules de *Loroglossum hircinum* sont découpés aseptiquement, mis sur gélose nutritive au fond d'un tube. Sur l'extrémité opposée du tube de gélose, Nobécourt dépose une semence d'*Orchéomyces hircini* Burgeff. (endophyte de *L. hircinum*). Le mycélium se développe sur la gélose, mais s'arrête à quelques centimètres du tubercule, laissant autour de lui un anneau périphérique de gélose nue. Nobécourt en conclut la présence d'une substance « anti-champignon » diffusée dans la gélose à partir du tubercule.

Si l'on chauffe le tubercule à $+ 56^{\circ}$, si on le soumet à un froid de $- 45^{\circ}$, ou à des vapeurs de chloroforme, le champignon se développe au contraire normalement sur la gélose sans recevoir aucune influence inhibitrice de la part du tubercule. Noël Bernard interprétait ce résultat en admettant la présence d'une substance préexistante dans le tubercule, et détruite par le chauffage.

Mais, comme le fait remarquer Nobécourt, ce résultat peut aussi bien s'expliquer par une sécrétion d'une substance anti-champignon au moment même où le champignon est semencé sur la gélose. Après chauffage à 55° , ou après exposition à un froid de $- 45^{\circ}$, les cellules sont tuées et la sécrétion n'a plus lieu. Cette substance ainsi sécrétée par la cellule vivante du tubercule sous l'influence du développement du champignon endophyte dans le voisinage, aurait la valeur d'un véritable « anticorps ».

Nous ne pouvons pas citer toutes les expériences qui permettent à Nobécourt de conclure que cette sécrétion a lieu sous l'influence du développement du champignon. Nous renvoyons, pour plus de précisions, à l'analyse serrée qu'il donne des faits observés sur le sujet par Noël Bernard, Magrou et lui-même, dans sa publication : « Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux ».

D'ailleurs, que cette substance inhibitrice de la croissance de l'endophyte préexiste dans le tubercule, ou qu'elle soit

sécrétée seulement dans le cas où l'endophyte vient à se développer au voisinage du tubercule, il n'en est pas moins certain qu'elle est spécifique. (Son action ne s'exerce énergiquement que vis-à-vis de l'endophyte de l'espèce). Et il se peut que, si elle existe dans le tubercule avant toute expérience, elle se soit formée sous l'influence du développement de l'endophyte dans les racines voisines du tubercule. Elle aurait encore, dans ce cas, la valeur d'un anticorps tel qu'on le définit en pathologie animale, et s'en distinguerait seulement par sa thermolabilité. Mais on ne voit pas *à priori*, d'empêchement à ce que certains anticorps soient thermolabiles.

Les travaux de Capelleti ont eu pour objet de mettre en évidence les réactions des Légumineuses à l'action de leurs bactéries commensales. Il explique la modification morphologique et physique des bactéries par l'action des anticorps. Certains auteurs ont voulu voir là surtout l'effet d'alcaloïdes fréquemment sécrétés par les Légumineuses (Zipfel et Barthel), mais ils reconnaissent que cet effet est, sauf de rares exceptions (caféine), difficile à constater *in vitro*. Et, pour étayer ses affirmations, Capelleti montre qu'il peut obtenir des réactions d'agglutination de bactéries quand il les met en présence d'extraits de nodosités. Il ne peut obtenir ces réactions qu'avec le suc des tubercules les plus âgés, alors que les bactéries ont évolué vers le type « bactéroïde », et ont donc apparemment subi, sous l'influence d'une sécrétion quelconque de la plante, une profonde modification.

Stickl (1927), utilisant le dispositif préconisé par Carbone, prend comme matériel une tige de tulipe, la coupe en deux parties qu'il réunit par un tube de caoutchouc rempli d'une suspension de *B. typhi*. Il plonge l'extrémité de la tige dans une solution nutritive et, à la faveur de l'ascension qui se produit sous l'influence de la transpiration des feuilles, observe le passage des éléments de la suspension de *B. typhi* à l'intérieur des tissus végétaux. Il isole de nouveau *B. typhi* de la tige de tulipe, observe que ses propriétés physiologiques et métaboliques ont changé. Dans le suc de la tulipe, il met en évidence l'apparition d'une agglutinine vis-à-vis du *B. typhi*.

Kostoff parle de formation d'anticorps par les plantes en se basant sur l'observation des phénomènes qui prennent place

dans le cas d'une greffe entre plantes d'espèces ou de genres différents, ou même dans le cas d'une greffe d'un hybride sur l'un de ses parents.

Il a étudié ce cas par la méthode cytologique et observe que les tissus joignant le greffon au sujet (en grande partie produits par le sujet) accumulent de l'amidon, de la silice, du tanin ; les chloroplastes massés en certains points du cytoplasme y semblent agglutinés.

Il pense qu'il s'agit là de l'effet des anticorps sécrétés par le sujet sous l'influence des protéines étrangères du greffon.

Il étudie pour s'en assurer, le comportement des extraits des deux plantes mélangés *in vitro*. Or, ces extraits, mis en présence l'un de l'autre, précipitent, qu'ils viennent de plantes sans connection ou de plantes greffées l'une sur l'autre (surtout dans le cas de plantes éloignées systématiquement). Mais l'intensité de la précipitation varie. Il les étudie au néphélomètre, et observe que la précipitation est beaucoup plus intense dans le cas des extraits de plantes greffées l'une sur l'autre. Il en conclut à la présence d'anticorps développés sous l'influence de la greffe.

Silberschmidt reprend ces expériences sur la greffe ; ses résultats ne confirment pas ceux de Kostoff.

Celui-ci, pourtant, les généralise encore, et voit dans le cas de l'embryon d'un hybride se développant au sein des tissus de la plante mère, un cas d'introduction de protéines étrangères à l'intérieur d'un organisme. Il suppose qu'il se produit également, dans ce cas, des anticorps, mais il n'étaie guère son hypothèse que par des observations cytologiques.

Much a, depuis, étudié l'action des tissus vivants des plantes sur les bacilles qui leur sont inoculés.

Il injecte des suspensions de B. de Koch à diverses plantes, puis isole à nouveau cette bactérie des tissus où il l'a inoculée. Il établit que : a) certaines plantes sont capables de lyser les bactéries ; b) d'autres les laissent vivantes, mais leur virulence se perd ; c) d'autres altèrent momentanément les bactéries, mais celles-ci sont capables de reprendre leur virulence.

Solanum nigrum, *Nicotiana tabacum*, *Lactuca sativa*, *Allium sativum*, *Allium cepa* se montrent très actifs vis-à-vis des bactéries. Dans le cas de *Solanum lycopersicum*, Much

observe que les fruits mûrs sont inactifs vis-à-vis des bactéries, alors que les fruits verts sont actifs. Ce qui s'explique sans doute par une différence de vitalité des tissus.

En 1932, nous avons nous-mêmes entrepris la recherche des principes assurant l'immunité des plantes.

Nous avons mis en évidence, par une technique que nous préciserons dans le présent travail, des agglutinines et des précipitines dans diverses plantes.

Ces résultats ont été en partie contestés par Carbone et Alexandri. Sardina, dans la même recherche, avait également obtenu des résultats négatifs.

Manil (1936) depuis, a recherché, sans arriver à les mettre en évidence, dans les extraits de plantes infectées, les anticorps spécifiques.

C'est peut-être Magrou qui, tout dernièrement, a le plus clairement démontré que l'emploi des techniques d'agglutination et de précipitation pouvaient être utilisées dans la recherche des propriétés acquises des suc des plantes parasitées.

Il observe que le *Bact. tumefaciens* ne se développe pas au sein des tissus dont il provoque la prolifération. Ceci le conduit à penser qu'il existe peut-être dans la plante sensible une substance capable d'agir sur la bactérie, et dont il serait possible de démontrer la présence *in vitro*.

Dans ce but, l'auteur effectue sur les suc de *Pelargonium zonale* et de *Chrysanthemum frutescens* affectés de tumeurs, des réactions d'agglutination et de précipitation.

Il établit que :

a) Le suc des tumeurs agglutine toujours les souches de Bactéries utilisées, l'intensité de l'agglutination se maintenant à un maximum aux concentrations les plus fortes ;

b) Le suc des plantes saines s'est montré fréquemment, sinon constamment, doué également de pouvoir agglutinant, mais l'intensité de l'agglutination a, dans le cas où elle est positive, l'allure d'un phénomène de zone se produisant entre deux valeurs rapprochées de l'échelle des dilutions, et généralement pas aux concentrations fortes ;

c) Le suc des parties saines de rameaux porteurs de tumeurs donne en général une agglutination du même type que le suc des tumeurs.

Ce pouvoir est spécifique et s'exerce seulement vis-à-vis du *Bact. tumefaciens*.

Mais il n'existe par contre que dans les suc des tumeurs ou des rameaux porteurs de galles, et ne s'observe pas dans les extraits de plantes saines.

Ce travail est sans doute celui qui établit la distinction la plus nette entre les phénomènes aspécifiques (produits, dirait Carbone, par les pseudo-anticorps) et les phénomènes spécifiques dont la lecture est rendue délicate par suite de la présence des premiers, mais n'en existent pas moins. Il conclut à l'apparition de propriétés nouvelles dans les suc des végétaux infectés par un parasite.

CRITIQUES ADRESSÉES AUX TRAVAUX SUR LES ANTICORPS.

Certains auteurs, critiquant le groupe des travaux sur les anticorps, ont contesté la spécificité des principes agglutinants, précipitants ou lytiques observés par d'autres auteurs. Ils ont attribué les effets observés à l'effet d'acides organiques (Lasseur et Renan), de sels minéraux (Chester) ou de composés mal définis pseudo-anticorps (de Carbone).

Visco observe que le suc de Citron agglutine beaucoup d'épèces de bactéries à cause, dit-il, de la présence d'acide citrique (3 p. 100) et d'une autre substance thermolabile, sans doute du type pseudo-agglutinine (Carbone).

Lasseur et Renan étudient à nouveau l'effet du suc de Citron et constatent, comme il est facile de le prévoir, qu'il agglutine les diverses suspensions de bactéries étudiées (*B. mori*, *B. prodigiosus*, *B. subtilis*, etc...).

Remarquons, en passant, que ce phénomène rapporté par Visco, Lasseur et Renan, est un phénomène bien connu des bactériologistes, celui de l'agglutination des bactéries en milieu acide. Il suffit de préparer une suspension de bactéries dans une solution à 5 % d'acide citrique, par exemple, pour constater que les bactéries s'agglutinent rapidement.

Le suc de Citron n'a donc là aucune action spéciale, de même que le suc de Bégonia que Lasseur étudie ensuite et qui, par son acidité (pH = 4,20 à 4,62), provoque le même phénomène. L'auteur lui-même constate que, amené à pH = 6,5,

le suc de Bégonia n'agglutine plus les bactéries. Le phénomène qu'il a observé est donc le phénomène très banal de l'agglutination en milieu acide et n'a rien de commun avec ce que nous étudions.

Les efforts de Lasseur et Renan pour provoquer, par inoculation, la formation d'un pouvoir agglutinant spécifique chez *Opuntia clivia* et *Anthémis* n'ont abouti qu'à des échecs, mais ces résultats négatifs, de même que l'action agglutinante non spécifique du suc de Citron ne peuvent naturellement constituer d'objections sérieuses contre l'existence réelle d'anticorps spécifiques, que de nombreux auteurs ont pu mettre en évidence.

Schneider, en 1912, avait signalé dans les cotylédons d'une variété de Haricots (Scarlet Runner), la présence d'un principe agglutinant les hématies. Ce principe n'existe que dans les cotylédons et disparaît à mesure que la plante se développe.

Kritschenski, en 1914, qui a, le premier, étudié l'action des végétaux sur les bactéries pathogènes pour l'homme, injecte différentes souches dans les feuilles de Crassulacées (*B. typhi*, *Vibrio cholerae*, *B. de Koch*). Il trouve que, chez la plante normale, existe vis-à-vis de ces bactéries, une certaine quantité d'agglutinine et de précipitrine qui ne s'accroissent pas après inoculation de ces plantes par une suspension de bactéries. Il ne donne pas de renseignement sur l'acidité des extraits de plantes qu'il a choisies comme sujets d'expérience.

Vigliono parle également de « pseudo-anticorps » dans la plupart des extraits de plantes non inoculées qu'il étudie, vis-à-vis de différentes bactéries pathogènes : *B. typhi*, *paratyphi*, *putridum*, *vibrio cholerae*, *aterrimus*, *vulgatus*.

Ces constatations n'apportent sans doute pas d'objections bien sérieuses à l'hypothèse de la formation des anticorps par les plantes. De ce qu'il existe normalement dans la plante, des principes non spécifiques agglutinant les suspensions de bactéries, il ne s'ensuit pas que la plante n'élabore pas, lorsqu'elle est envahie par un germe étranger, des anticorps spécifiques se traduisant également par une réaction d'agglutination *in vitro*. Cette réaction d'agglutination sera évidemment plus difficile à mettre en évidence puisqu'elle sera masquée par une autre. Mais elle peut cependant l'être, grâce à la

recherche quantitative des agglutinines dont le taux est de beaucoup supérieur chez les plantes préparées à celui que l'on observe chez les plantes témoins non préparées.

L'objection la plus sérieuse est constituée par les remarquables travaux de Chester sur lesquels nous insisterons davantage, pour faire comprendre l'évolution de sa pensée, et aussi faire remarquer que le phénomène qu'il étudie n'est pas exactement de la même espèce que celui qui nous intéresse.

Le point de départ de ces travaux est l'étude d'une maladie des Lilas connue en Amérique sous le nom de Graft-Blight (flétrissure de greffe). Cette maladie s'observe sur les Lilas greffés sur Troènes. La plante n'héberge aucun parasite. La cause de la maladie est bien due à l'emploi du Troène comme porte-greffe.

Chester se demanda si le greffon, qui, de toute évidence, souffrait de son association avec le porte-greffe, n'avait pas élaboré ces anticorps dont parle Kostoff, en réaction contre les protéines étrangères du porte-greffe.

Il prépara donc des extraits de Lilas et de Troènes et les mit en présence, suivant la technique usuelle de précipitation. Or, dans le cas des mélanges de suc de Lilas sain et de Troène sain, il n'observe aucun précipité. S'il additionne au contraire, à du suc de Troène, le suc de Lilas devenu malade par suite de son association avec le Troène, il observe un précipité. De conclure de cette observation à la formation d'anticorps spécifiques élaborés par le Lilas contre les protéines du Troène, il n'y avait qu'un pas. Mais une autre expérience vint ôter toute valeur, sembla-t-il à Chester, à cette conclusion. Mettant en présence de l'extrait de Troène et de l'extrait de Lilas souffrant d'une autre maladie que le Graft-Blight, infectieuse ou non, il obtient également une précipitation. Cette double constatation l'amène à rechercher la nature de ce précipité et de ceux que l'on obtient en mettant en présence les sucs de plantes d'espèces différentes. On sait, en effet, que les extraits des plantes systématiquement éloignées donnent, lorsqu'ils sont mis en présence, des précipités, alors que les plantes d'espèces voisines n'en donnent pas. Et cette propriété peut être employée dans la classification des plantes.

Une étude serrée lui fait conclure que dans 57 pour 100 des

cas, il s'agit de précipité d'oxalate de calcium ; dans quelques cas très rares seulement, les précipités sont de nature organique.

Ces résultats lui permettent de discuter l'interprétation immunologique des travaux de Kostoff, de East (sur l'anticorps développé par la Canne à sucre atteinte de maladie à virus), etc. Mais on peut mettre en doute la valeur des conclusions de Chester à cause de la technique qu'il emploie (dessiccation des plantes étudiées) qui peut amener une cause d'erreur importante.

D'ailleurs, si l'on peut craindre une confusion due à la présence de sels minéraux dans le cas des phénomènes de précipitation, cette confusion ne peut être faite dans le cas de l'agglutination spécifique, qui peut se contrôler au microscope et n'a rien à voir avec le phénomène que Chester étudie.

Un grand nombre des travaux que nous venons de passer en revue tendent à démontrer que la plante est capable de produire des anticorps au même titre que l'organisme animal lorsqu'elle est soumise à l'action d'un antigène. C'est aussi la conclusion à laquelle nous ont conduite nos recherches personnelles. Cette analogie des réactions biologiques constatée chez les plantes et chez les animaux n'est pas limitée à la formation des anticorps ; elle se poursuit dans d'autres domaines qui ne se rattachent qu'indirectement à notre sujet d'étude et que nous ne ferons, pour cette raison, que signaler.

La bibliographie précédente donne une idée du grand nombre de travaux ayant pour objet l'immunité chez les végétaux.

Nous allons exposer maintenant nos recherches personnelles qui ont eu pour but, comme nous l'avons indiqué, l'étude des réactions d'immunité de la cellule végétale au moyen des techniques actuellement employées en pathologie animale, et de la mise en évidence des facteurs humoraux de l'immunité chez les végétaux.

DEUXIÈME PARTIE

PARTIE EXPÉRIMENTALE

RECHERCHE ET MISE EN ÉVIDENCE DES FACTEURS HUMORAUX DE L'IMMUNITÉ

Nous diviserons la partie expérimentale de notre travail de la façon suivante :

Dans une première partie A), nous étudierons les réactions de plantes inoculées ou infectées avec des cultures bactériennes totales.

Dans une seconde partie B), nous étudierons les réactions de plantes vis-à-vis de toxines bactériennes obtenues par filtration des mêmes cultures.

Dans une troisième partie C), nous exposerons le résultat d'une expérience au cours de laquelle nous avons remplacé les protéines microbiennes par de l'albumine d'œuf.

Enfin, dans une dernière partie, nous étudierons deux cas de mise en œuvre des mécanismes de défense de la plante : le cas de l'altération d'un germe non pathogène au cours de son séjour dans une plante, et celui de la défense des épidermes végétaux.

A. — Étude des réactions de plantes inoculées ou infectées avec des cultures bactériennes.

PRÉPARATION DU MATÉRIEL D'EXPÉRIENCE

CHOIX DU MATÉRIEL D'EXPÉRIENCE.

Le choix du matériel d'expérience a présenté pour notre travail d'assez grandes difficultés.

Les conditions défectueuses dans lesquelles nous étions au

départ de notre travail pour cultiver des plantes restreignait beaucoup les limites de notre choix. Nous ne pouvions utiliser que les plantes d'entretien et de production faciles : plantes à tubercules (*Solanum tuberosum*), à bulbes (*Allium cepa*), plantes issues de graines pourvues de réserves abondantes (*Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris*).

L'emploi des techniques sérologiques que nous désirions faire dans cette expérience nous interdisait, au moins en partie, l'emploi de champignons comme agents parasitaires. Nous nous sommes donc toujours adressé à des bactéries. D'autre part, peu nous importait que l'agent fût pathogène ou non à la plante d'expérience. Notre choix a d'abord porté sur le *B. proteus*, de culture et d'identification faciles. Postérieurement, l'emploi du cobaye pour la mise en évidence des anticorps végétaux nous a conduit à nous adresser à d'autres microbes pathogènes pour cet animal, le bacille de Gärtner par exemple. Dans ces conditions, l'étude de cas naturels d'infections n'occupe qu'une très faible place dans notre travail. bien que nous ayons l'intention d'étudier plus spécialement, à l'avenir, la formation et la mise en évidence des anticorps chez les plantes au cours des maladies parasitaires connues en pathologie végétale.

INOCULATION DU MATÉRIEL.

Sauf dans le cas où nous nous sommes adressé à des végétaux naturellement infectés par une bactérie, l'expérience nous a montré qu'il fallait, pour étudier les réactions des plantes à des bactéries qui n'exercent sur elles aucune action pathogène dans les conditions ordinaires, leur inoculer des doses de cultures microbiennes relativement élevées.

L'inoculation d'une suspension ou solution quelconque à une plante est difficile à réaliser du fait qu'il n'existe chez elle rien de comparable au système circulatoire des animaux. Si l'on fait une plaie dans un organe végétal quelconque, et que l'on amène la suspension à inoculer au contact de cette plaie, les cellules périphériques, qui bientôt se cicatriseront, sont seules en contact avec elle. Si la plante absorbe un peu de ce liquide, les cellules intérieures ne la reçoivent qu'après

sa filtration et sa modification possible à travers les membranes protoplasmiques.

Les cellules des canaux parcourus par les sèves de la plante ne jouent pas elles-mêmes un rôle seulement passif. Il se fait, dans la plante, une modification rapide des solutions absorbées dès qu'elles y subissent un transport. En fait, celui-ci ne semble même possible que si la modification a lieu. Nous avons résolu de façon variable, suivant la nature de la plante sur laquelle nous travaillions, ce problème délicat de l'inoculation.

1° CAS DES LÉGUMINEUSES (*Phaseolus vulgaris*, *Vicia faba*).

— Le choix de ces plantes nous a donné pleine satisfaction, d'abord parce que leur culture était facile, puis à cause de la présence d'un canal médullaire, surtout large dans le cas de *Vicia faba*. Ce canal médullaire permet l'injection de quantités relativement élevées (1 cent. cube par exemple, dans une jeune plante de trois semaines) de n'importe quelle culture bactérienne. La culture ainsi introduite est amenée au contact des cellules vivantes du parenchyme et des vaisseaux sans traumatisme considérable de la plante.

Nous utilisons des cultures microbiennes de vingt-quatre heures en bouillon Liebig (*B. proteus* ou *B. Gärtner*) et nous les inoculons dans les tissus au moyen d'une seringue à injection hypodermique. Nous choisissons le point d'inoculation au sommet de la tige, là où le canal médullaire commence à se former, en ayant soin de pratiquer auparavant, au bas de cette même tige, une perforation par où s'échappe l'air que la culture inoculée pousse devant elle.

Les plantes étudiées sont soumises à trois ou quatre inoculations, en général à huit jours d'intervalle. Elles sont sacrifiées un à huit jours après la dernière inoculation.

Nous donnons, dans le cas de chaque expérience, le détail du protocole suivi.

2° *Allium cepa*. — Encore plus que la Fève, l'Oignon ou l'Échalote se prêtaient à une culture facile au laboratoire. Il suffit de mettre les bulbes en terre humide ou au-dessus d'un cristalliseur rempli d'eau pour obtenir rapidement, même en

lumière réduite, des plantes dans les feuilles desquelles il est facile d'inoculer des quantités relativement importantes de culture bactérienne (1 cent. cube par exemple, dans chaque feuille d'un pied d'*Allium cepa*).

Le seul inconvénient de ces plantes est la présence, dans leurs tissus, d'un principe antiseptique qui peut masquer le pouvoir de réaction de la cellule vivante ou se superposer à lui. Nous les avons néanmoins employées pour un certain nombre d'expériences.

Comme dans le cas des fèves, on inocule à la plante trois ou quatre fois de suite, à huit jours d'intervalle, une culture bactérienne (Gärtner ou Tétragène) de vingt-quatre heures en bouillon Liebig. On sacrifie la plante un à huit jours après la dernière inoculation.

3° SOLANUM TUBEROSUM. — C'est encore la possibilité d'obtenir facilement une plante en végétation au laboratoire, même pendant les mois d'hiver, qui nous a fait prendre la Pomme de terre.

Elle présente pourtant le double inconvénient de ne pas permettre facilement les inoculations, et d'offrir dans son bulbe une énorme masse de tissus douée de peu d'activité végétative. Il s'ensuit que les réactions de la plante seront moins étendues et moins accentuées que dans les plantes citées précédemment.

Nous avons pratiqué l'inoculation en faisant, dans le bulbe, une cavité circulaire de 1 cent. 5 de diamètre et de 3 centimètres de profondeur, avec un perce-bouchon stérilisé. C'est dans cette cavité que nous avons introduit 1 cent. cube de la culture bactérienne en bouillon, dont nous voulions étudier l'effet. Pour empêcher toute contamination, nous avons ajusté, dans la cavité, un tube de verre stérile, du diamètre de l'orifice et qui a été bouché au coton. (C'est une méthode un peu analogue à celle que Carboné appelle la méthode du « tasselo »).

Le bulbe est mis à végéter sur terre humide ou bien laissé à l'état de repos. Nous avons, en effet, voulu étudier ses réactions dans différents cas de végétation.

Nous avons répété une, deux ou trois fois l'inoculation bac-

térienne dans ces bulbes, en grattant chaque fois avec une aiguille lancéolée stérilisée, l'épiderme de liège formé après la dernière inoculation, pour remettre la culture bactérienne en contact avec des cellules vivantes.

EXTRACTION DU SUC CELLULAIRE.

Si l'inoculation d'une culture bactérienne à une plante présente des difficultés, le problème de l'extraction du suc cellulaire est également très délicat.

L'idéal eut été d'obtenir, par ponction d'une cellule, le suc élaboré par cette cellule au cours de sa réaction contre le parasite. Une telle pratique étant impossible, force nous a été de préparer un extrait total qui représente un mélange des suc vacuolaires, de composés protoplasmiques et des sèves de toutes les parties de la plante.

Nous avons employé deux méthodes :

Première méthode : On opère un broyage de l'organe végétal étudié, soit au pilon, dans un mortier, soit par écrasement sur plaque de verre dépoli, soit par brassage avec des billes de verre dans le broyeur de Borel ; on ajoute au magma obtenu une certaine quantité d'eau distillée (100 cent. cubes d'eau pour 25 gr. de plante) ; on laisse macérer douze heures, puis on presse le tout dans une étamine et on filtre sur papier.

Deuxième méthode : On broye l'organe végétal dans un hacheur de type ordinaire muni d'un couteau très fin. On parvient ainsi à réduire la pulpe en une bouillie ou en un liquide épais, alors que les éléments ligneux de la plante restent dans le hachoir. On recueille le liquide obtenu ; on le filtre sur papier.

FILTRATION DES EXTRAITS VÉGÉTAUX OBTENUS.

La filtration des extraits végétaux obtenus est nécessaire pour plusieurs raisons :

1° Parce que les réactions d'agglutination et de précipitation ne peuvent s'observer qu'avec des liquides clairs.

2° Parce que, dans le cas où l'on doit opérer avec des

liquides stériles (inoculation à des animaux de laboratoire, par exemple), le passage sur bougie Chamberland L3 constitue le meilleur moyen de les stériliser. Il est, de plus, commode pour une bonne organisation du travail, d'effectuer en série les extractions de sucres cellulaires, puis les réactions effectuées sur eux. Il faut donc pouvoir assurer la conservation de ces extraits pendant une période de temps plus ou moins longue. Nous avons essayé, dans ce but, plusieurs méthodes : conservation à la glacière, pasteurisation (passage à l'étuve à 55°, trois jours de suite), stérilisation par filtration sur bougie Chamberland L3. C'est cette dernière méthode que nous avons finalement jugée la meilleure, parce qu'elle est la plus sûre.

L'objection que l'on peut faire à ces filtrations est que chacune d'elles retient plus ou moins de matières colloïdales en suspension dans les extraits, et les substances actives que l'on recherche peuvent se fixer sur ces matières colloïdales.

Chaque mode de filtration fournit un liquide qui présente un aspect physique différent de celui que possède un autre filtrat. Celui obtenu par passage sur bougie L3 est différent de celui obtenu par filtration sur terre d'infusoire, qui n'est lui-même pas semblable à celui que donne la filtration sur noir animal, etc... Il y a donc des raisons de croire que la composition d'un extrait donné est modifiée selon le mode de filtration adopté.

Une de nos expériences, citée plus loin (recherche des précipitines), a conduit à une comparaison des propriétés des extraits filtrés suivant différents modes. Dans cette expérience, c'est la filtration sur noir animal qui a donné le filtrat le plus riche en précipitines. Il se peut donc que ce soit le mode qui altère le moins la composition des extraits. Pourtant, à cause de la commodité et parfois la nécessité d'avoir des extraits stériles, c'est la filtration sur bougie Chamberland L3 que nous avons le plus fréquemment employée.

ÉTUDE DU MATÉRIEL D'EXPÉRIENCE

Recherche des anticorps élaborés par les plantes infectées ou inoculées avec des bactéries, par les méthodes sérologiques.

Dans les extraits de plantes inoculées expérimentalement avec des cultures bactériennes, nous avons recherché la présence des anticorps dans le suc cellulaire, par les techniques d'agglutination, de précipitation, de déviation du complément.

I. — RECHERCHE DES AGGLUTININES.

Technique. — Nous avons recherché les agglutinines de deux façons : a) soit macroscopiquement, b) soit microscopiquement.

a) AGGLUTINATION PAR LE PROCÉDÉ MACROSCOPIQUE EN TUBE A HÉMOLYSE. — On fait une suspension en eau physiologique, d'une culture bactérienne sur gélose de vingt-quatre heures, à la densité approximative de 500 millions de germes par centimètre cube.

On y ajoute l'extrait de plantes à des concentrations variables ($1/3$ à $1/100\ 000$ du volume total de la réaction).

Les tubes sont mis à l'étuve une heure à 37° , puis laissés vingt-quatre heures à 20° , température du laboratoire ; après quoi, la lecture est faite.

b) AGGLUTINATION PAR LE PROCÉDÉ MICROSCOPIQUE. — Le principe de la réaction est le même que dans le cas de l'agglutination macroscopique, mais le mélange des suspensions microbiennes et des extraits de plantes, fait dans des verres de montre, est examiné au microscope dans les quelques heures qui suivent la préparation. Dans le cas où se produit une agglutination, l'observateur voit se former des amas de bactéries de plus en plus gros.

Ces deux techniques ont, en principe, la même rigueur, mais il est bon lorsqu'on a des doutes sur la nature des

flocons que l'on voit se former dans la série des tubes d'agglutination, dans le cas du procédé macroscopique, de vérifier qu'il s'agit bien d'agréats bactériens, par examen microscopique. Il peut, en effet, au sein de liquides organiques, se produire des précipités colloïdaux qui peuvent faire croire à une réaction d'agglutination positive, et amener une cause d'erreur.

EXPÉRIENCE N° 1. — *Plante d'expérience : Solanum tuberosum. Germe inoculé : B. Gärtner.*

Les inoculations ont été faites de deux façons :

1° Soit en versant 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures en

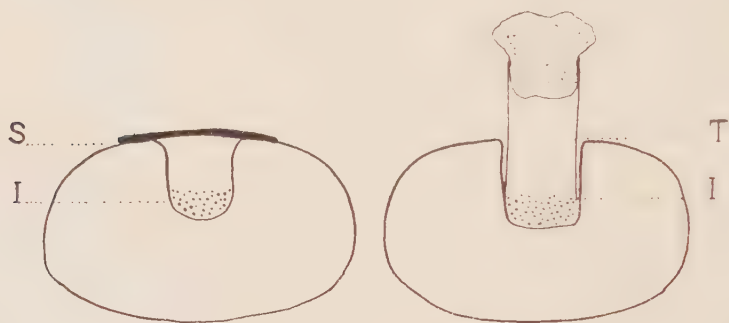


FIG. 1. — *Tubercule 1.* Inoculation dans une cavité bouchée par une bande de sparadrap. S, bande de sparadrap ; I, inoculum.

Tubercule 2. Inoculation dans une cavité fermée par un tube de verre stérile. T, tube de verre, bouché au coton ; I, inoculum.

bouillon Liebig dans une cavité creusée de façon stérile dans le tuberculé, puis en recouvrant cette cavité de bandes de sparadrap fermant l'orifice ;

2° Soit en versant 1 cent. cube de la culture à inoculer dans une cavité circulaire taillée dans le bulbe avec l'emporte-pièce stérilisé, et fermée par un tube de verre stérile, bouché au coton.

L'inconvénient de la première technique est qu'elle n'assure pas la stérilité de la cavité dont on observe souvent l'envahissement par des moisissures ou germes étrangers amenant la pourriture du tubercule.

Nous avons, le même jour, utilisé 9 séries de tubercules ainsi préparés.

Séries témoins.

Série 1. — Tubercules de Pommes de terre inoculés avec de l'eau salée, mis en végétation pendant deux mois (une inocu-

lation à chaque tubercule, par la méthode de la bande de sparadrap).

Série 2. — Tubercules inoculés avec de l'eau salée, laissés à l'état dormant pendant un mois et demi (une inoculation à chaque tubercule par la méthode du tube à essai).

Série 3. — Tubercules inoculés avec de l'eau salée, mis en végétation pendant un mois et demi (une inoculation à chaque tubercule par la méthode du tube à essai).

Séries d'expérience.

Série 4. — Tubercules inoculés avec *B. Gärtner* et mis à végéter pendant deux mois (une inoculation à chaque tubercule par la méthode de la bande de sparadrap).

Recherche des agglutinines dans l'extrait de *Solanum tuberosum* inoculé avec du *B. Gärtner*, par le procédé microscopique.

RÉSULTATS.

NUMÉRO DES EXTRAITS	DILUTIONS				OBSERVATIONS
	1/3	1/10	1/20	1/50	
N° 1. Témoin eau salée .	—	—	—	—	Agglutination très rapide.
N° 2. Témoin eau salée .	+	—	—	—	
N° 3. Témoin eau salée .	+	+	—	—	
N° 4	++	+	—	—	
N° 5	+	±	—	—	
N° 6	++	++	+	+	
N° 7	+	+	+	+	
N° 8	++	++	+	+	
N° 9	+	+	+	+	
Témoin Gärtner	Ne s'agglutine pas spontanément.				

Série 5. — Tubercules inoculés avec *B. Gärtner*, mis à végéter pendant deux mois (deux inoculations à chaque tubercule par la méthode de la bande de sparadrap).

Série 6. — Tubercules inoculés avec du *B. Gärtner*, laissés à l'état dormant pendant un mois et demi (une inoculation à chaque tubercule par la méthode du tube à essai).

Série 7. — Tubercules inoculés avec du *B. Gärtner*, mis à végéter pendant un mois et demi (une inoculation à chaque tubercule par la méthode du tube à essai).

Série 8. — Tubercules inoculés avec du *B. Gärtner*, laissés à l'état dormant pendant un mois (deux inoculations à chaque tubercule par la méthode du tube à essai).

Série 9. — Tubercules inoculés avec du *B. Gärtner*, mis à végéter pendant un mois (deux inoculations par la méthode du tube à essai).

L'extrait des plantes, obtenu après broyage au broyeur (suivant la technique 2, p. 44), a été filtré sur bougie Chamberland L3.

Il a été employé à la recherche des agglutinines par les procédés macroscopiques et microscopiques.

Les extraits végétaux ne précipitent pas.

Sur cette série d'extraits, nous avons opéré au microscope, une série de micro-agglutinations.

Pour chaque extrait, les dilutions dans la suspension de *B. Gärtner* ont été faites au 1/3, au 1/10, au 1/20, au 1/50.

Après vingt minutes de contact, on examine les mélanges placés entre lame et lamelle.

Le tableau suivant donne les résultats de la micro-agglutination. Les résultats sont presque exactement ceux de l'agglutination en tubes à hémolyse.

Aucune des dilutions d'extraits de plantes ne précipite.

La lecture des deux tableaux précédents conduit aux conclusions suivantes :

Dans le cas des mélanges présentant une concentration relativement élevée en extraits de plantes (1/10, 1/20), on observe presque toujours l'agglutination de la suspension bactérienne. Mais dans le cas des mélanges où les extraits de plantes sont plus dilués (1/50, 1/100, 1/200), l'agglutination n'existe que dans les tubes contenant l'extrait de plantes préparées. On ne peut pas, à ces dilutions, invoquer l'acidité pour expliquer l'agglutination, puisque la réaction est très voisine de la neutralité et qu'elle est la même dans la série d'expérience et dans la série témoin. L'agglutination produite par l'extrait de plantes inoculées semble donc bien due à une action spécifique de la plante traitée.

Remarquons, en passant que M. Magrou observe exactement le même phénomène dans le cas de l'agglutination de *B. tumefaciens* par le suc de *Pelargonium* : les extraits de

Recherche des agglutinines dans l'extrait de *Solanum tuberosum* inoculé avec du *B. Gärtner*, par le procédé macroscopique.

RÉSULTATS.

NUMÉRO DES SÉRIES	DILUTIONS DES EXTRAITS VÉGÉTAUX			
	1/20	1/100	1/500	1/1000
N° 1. Témoin eau salée	+	—	—	—
N° 2. Témoin eau salée	+	—	—	—
N° 3. Témoin eau salée	++	+	—	—
N° 4	+	—	—	—
N° 5	+	+	—	—
N° 6	+	—	—	—
N° 7	+	+	—	—
N° 8	++	++	+	—
N° 9	++	+	+	+
Témoin Gärtner (1).	N'agglutine pas spontanément.			

Pelargonium à tumeurs et ceux de *Pelargonium* sans tumeurs agglutinent les suspensions de *B. tumefaciens* aux concentrations fortes. Mais, dans le cas où les extraits sont plus dilués, seuls les extraits de *Pelargonium* atteints de tumeurs agglutinent le *B. tumefaciens*.

EXPÉRIENCE N° 2. — Plante d'expérience : *Allium cepa*. Germe inoculé : *B. Gärtner*.

On a inoculé les bulbes d'*Allium cepa* en y pratiquant, de façon stérile, des cavités circulaires à l'emporte-pièce, et en y introduisant 1 cent. cube de culture, dans chacune des 3 ou 4 incisions, pour un bulbe moyen de 40 grammes environ. On bouche ces incisions par des bandes gommées. Les bulbes sont mis en terre, entrent en croissance. Les germes d'Oignons traumatisés par l'incision dans le bulbe sont en contact direct avec la culture microbienne inoculée. Les feuilles se développent normalement, mais présentent des cicatrices de liège, marque des lésions subies par le germe.

Au bout de trois semaines de végétation environ, on arrache ces plantes ; on broie, dans un mortier, feuilles et bulbes (ceux-ci à l'exclusion des écailles extérieures). On ajoute 100 cent. cubes d'eau distillée à 40 grammes de tissus végétaux. On laisse macérer douze heures. Puis on presse dans une mousseline et on filtre sur papier. L'extrait ainsi obtenu est refiltré sur bougie Chamberland L3.

On opère sur ces extraits la recherche des agglutinines.

Le pH de la réaction est voisin de 7.

(1) Aucune des dilutions d'extraits de plantes ne précipite.

EXTRAITS	DILUES DANS UNE SUSPENSION EN EAU PHYSIOLOGIQUE de Gartner au				
	1/10	1/20	1/50	1/100	1/500
<i>Allium cepa</i> inoculé. . .	Legere agglutination.			—	—
<i>Allium cepa</i> témoin. . .	—	—	—	—	—

Dans cette expérience, la série des réactions effectuées avec l'extrait de plantes témoins n'a donné aucune agglutination. La série des réactions effectuées avec les extraits de plantes traitées a donné une agglutination visible à toutes les dilutions, mais plus particulièrement marquée aux concentrations faibles. Nous avons souvent remarqué ce fait : agglutination faible ou nulle aux concentrations fortes, agglutination forte aux concentrations faibles. Ceci ne se produit d'ailleurs que dans le cas où les extraits de plantes témoin ne donnent aucune agglutination. Dans cette réaction, comme dans celles précédemment effectuées avec l'extrait de *Solanum tuberosum*, les tubes marquant l'action spécifique de l'extrait de plantes traitées sont donc ceux où le suc de la plante est relativement dilué.

EXPÉRIENCE N° 3. — *Plante d'expérience* : Échalote, croissant en eau distillée, préparée suivant la technique indiquée p. 41.

Microbe inoculé à cette plante : Tétragène.

Trois inoculations à huit jours d'intervalle, 0 c. c. 25 dans chaque feuille à chaque inoculation.

Extraction du suc cellulaire par broyage suivi de macération ; cette extraction est suivie de filtration sur bourse d'amiante, puis sur bougie L3. Les feuilles seules ont été utilisées.

La réaction est faite sur l'extrait de plantes préparées avec le Tétragène et sur de l'extrait d'Échalote inoculée avec de l'eau salée qui servira de témoin.

Résultat de l'expérience :

NATURE DE L'EXTRAIT	DILUTIONS			
	1/10	1/20	1/50	1/100
Extrait de plantes préparées . .	—	—	—	—
Extrait de plantes inocuées avec de l'eau salée . .	—	—	—	—

Nous avons, dans cette série d'expériences, opéré également la réaction avec des suspensions de germes autres que le Tétragène (*B. Gärtner*, *B. proteus*, *B. coli*). Nous n'avons, dans ces cas, obtenu aucune agglutination avec l'extrait de plantes normales ou préparées.

Cette expérience présente un résultat analogue à celui donné par l'expérience précédente :

Pas d'agglutination dans les tubes de la série témoin.

Agglutination dans le dernier tube de la série d'expérience.

La propriété agglutinante spécifique de l'extrait de plantes traitées ne se manifeste donc encore qu'à des concentrations faibles.

Ce phénomène peut être rapproché du phénomène de « zone » connu en sérologie. Un sérum possédant la propriété d'agglutiner une bactérie donnée ne manifeste cette propriété que dans une certaine zone de l'échelle des dilutions. Cette zone ne coïncide pas forcément avec celle des concentrations fortes.

EXPÉRIENCE N° 4. — Dans cette expérience, nous avons recherché les agglutinines, non plus dans des plantes préparées par des inoculations avec un germe déterminé, mais dans des plantes croissant dans un milieu additionné de cultures d'un germe donné.

Dans ce but, des tubercules d'*Allium cepa* sont mis à croître à la surface de milieux liquides de compositions variables :

1° Eau distillée ;

2° Eau salée ;

3° Bouillon Liebig ;

4° Eau distillée additionnée de 1 cent. cube de culture en bouillon de vingt-quatre heures de *B. proteus*, pour 50 cent. cubes d'eau ;

5° Eau salée additionnée de 1 cent. cube de culture en bouillon de vingt-quatre heures de *B. proteus*, pour 50 cent. cubes d'eau ;

6° Bouillon Liebig additionné de 1 cent. cube de culture en bouillon de vingt-quatre heures de *B. proteus*, pour 50 cent. cubes d'eau.

La durée de l'expérience est d'un mois. A cause de la putréfaction qui s'établit rapidement dans les milieux, ceux-ci sont renouvelés tous les deux jours.

A l'issue de l'expérience, les plantes sont broyées (feuilles et bulbes séparément), les extraits obtenus sont filtrés sur bougie Chamberland L3.

On recherche alors dans ces extraits, la présence d'agglutinines pour le *B. proteus*.

Les résultats de cette expérience sont consignés dans le tableau ci-dessous :

MILIEUX DE CROISSANCE EMPLOYÉS	ORGANES	TAUX DE DILUTION			
	végétaux broyés	1/5	1/10	1/100	1/200
Eau distillée.	Feuilles.				
	Bulbes.				
Eau salée	Feuilles.				
	Bulbes.				
Bouillon Liebig	Feuilles.				
	Bulbes.				
Milieu Dufrenoy-Labrousse.	Feuilles.				
	Bulbes.				
Eau distillée et Proteus	Feuilles.				
	Bulbes.	-	-		
Eau salée et Proteus.	Feuilles.			++	++
	Bulbes.	-		++	++
Milieu Dufrenoy-Labrousse et Proteus.	Feuilles.			-	-
	Bulbes.			-	-
Bouillon Liebig et Proteus	Feuilles.				
	Bulbes.	-			++

(1) L'agglutination n'était pas assez nette dans ces tubes pour conclure à une réaction positive.

La lecture de ce tableau indique que seuls les extraits de plantes ayant crû en eau salée, ou en solution minérale additionnée de cultures de *B. proteus*, présentent le pouvoir d'agglutiner le *B. proteus*. Les plantes témoins ayant crû en eau salée, eau distillée et solution minérale non additionnée de *B. proteus* n'agglutinent pas ce bacille.

La plante croissant dans un milieu additionné de *B. proteus* a donc réagi et élaboré, vis-à-vis de ce bacille, une agglutinine spécifique, un anticorps.

Nous avons essayé sans succès, d'isoler le *B. proteus* des tissus de ces plantes ; nos cultures se sont montrées négatives, même pour des plantes traitées pendant un mois. On peut en déduire que :

Ou bien le microbe s'est développé pendant un certain temps dans ou sur la plante, puis a été détruit ; et la plante aurait élaboré les anticorps agglutinants que nous observons, au contact de ces germes vivants ou tués ;

Ou bien le microbe n'a pas pénétré à l'intérieur de la

plante et ce seraient uniquement les cellules superficielles (cellules des poils absorbants en particulier) qui, en contact avec les corps microbiens, auraient élaboré des agglutinines.

Nous rapportons en tous cas le phénomène, quelle que soit son origine.

Remarquons que cette disposition : croissance de la plante dans un milieu riche en germes bactériens, se rapproche beaucoup des conditions normales de croissance de la plante qui se développe dans la terre, dont la flore bactérienne est parfois très riche. Il se peut donc que n'importe quelle plante élabore des anticorps, des agglutinines en particulier, contre les microbes qui sont abondants dans le sol où elle se développe. Peut-être certains « pseudo-anticorps » signalés par les auteurs sont-ils en réalité de véritables anticorps élaborés dans ces conditions.

DISCUSSION.

Les expériences d'agglutination rapportées précédemment, choisies parmi le grand nombre de celles que nous avons effectuées, nous permettent de conclure, dans certains cas, à l'apparition d'une propriété nouvelle dans le suc de plantes inoculées avec une bactérie donnée : celle d'agglutiner des suspensions de cette bactérie dans des conditions où les mêmes plantes témoins non inoculées ne présentent aucun pouvoir agglutinant. Cette propriété ne s'exerce que vis-à-vis de la bactérie qui a servi à préparer la plante.

Nous avons toujours effectué les réactions à la fois sur l'extrait de plantes traitées et sur l'extrait de plantes non traitées. Nous avons enregistré certaines expériences dans lesquelles ni la série témoin, ni la série en expérience n'agglutinaient. Nous en avons enregistré d'autres, beaucoup plus rares, dans lesquelles l'une et l'autre agglutinaient.

Enfin, nous en avons enregistré certaines dans lesquelles l'extrait de plantes traitées possédait seul, dans certaines conditions, la propriété d'agglutiner la bactérie que la plante avait hébergée.

Nous pensions que dans les deux premiers cas le résultat doit être regardé comme nul. Nous disons *nul*, et non pas *négatif*.

Nous ne pouvons, en effet, mettre en doute que les tech-

niques que nous avons utilisées pour les déceler soient très imparfaites. Nous verrons que c'est l'imperfection de l'expérimentation plutôt que la carence des réactions de la plante qui doit être mise en cause dans nombre d'expériences à résultats semblant négatifs ; dans celles, en particulier, où il n'y a agglutination ni dans la série en expérience, ni dans la série témoin.

Dans les expériences où l'agglutination se produit dans les deux séries, le résultat ne peut également s'interpréter de façon négative. Il se peut, en effet, que deux phénomènes se produisent simultanément : Celui de l'agglutination due à la présence, dans le suc de la plante normale, de substances agglutinant les bactéries, et celui de l'agglutination due à la présence d'agglutinines spécifiques dans le suc de la plante traitée. L'acidité parfois élevée des extraits de plantes peut, en effet, être une cause de l'agglutination des bactéries. M. Lasseur a étudié ce phénomène, et a montré que l'acidité élevée du suc du fruit de *Citrus lemonum* provoquait l'agglutination des bactéries, de même que le suc de *Bégonia*, particulièrement acide ($\text{pH} = 2,8$).

Mais, comme nous l'avons déjà remarqué, c'est un phénomène absolument général. Les suspensions des bactéries que cet auteur étudie, comme il le fait remarquer, précipiteraient tout aussi bien dans n'importe quelle solution acide de $\text{pH} = 3$.

Pour nous mettre à l'abri de cette cause d'erreur, nous avons déterminé le pH de quelques-uns des extraits végétaux que nous avons étudiés.

De façon générale, les extraits végétaux, sauf quelques rares cas, sont acides. Mais on peut cependant enregistrer de notables différences dans l'intensité de leur acidité.

Ceux obtenus par la méthode de broyage suivie de macération dans l'eau distillée neutre sont, en général, très voisins de la neutralité. Ceux obtenus en broyant la plante entière dans un broyeur, et qui se rapprochent sans doute davantage des contenus cellulaires, sont, en général, plus acides.

Des tubercules de pommes de terre placés en végétation durant les mois d'hiver ont donné, par exemple, par broyage, un extrait à réaction nettement alcaline :

Tubercules témoins	pH = 8,10	pH = 7,17
Tubercules inoculés.	pH = 8,24	pH = 7,65

(Déterminations au moyen de l'électrode à hydrogène.)

Par contre, des Oignons placés à la même saison dans les mêmes conditions ont donné un extrait plus acide :

pH = 5,20 pH = 5,84.

Il est bon de remarquer que le pH d'un extrait de plantes change avec une grande rapidité si cet extrait contaminé subit un début de fermentation : c'est une des raisons pour lesquelles la stérilisation des extraits doit être faite le plus rapidement possible.

De plus, l'extrait de plantes inoculées a souvent une acidité différente de l'extrait de plantes témoins. On peut l'expliquer, en partie du moins, dans le cas (de la Fève, par exemple) où la tige de plante peut contenir des quantités relativement importantes de cultures bactériennes (environ 1 cent. cube) qui lui ont été inoculées. Le bouillon de culture, de réaction alcaline, dilue un peu l'extrait de plantes et ramène son pH vers la neutralité.

Remarquons, en passant, que les extraits des plantes inoculées semblent avoir des propriétés physico-chimiques différentes des extraits de plantes traitées : couleur, stabilité (précipitation spontanée des substances colloïdales en suspension dans l'extrait), acidité, rapidité de filtration, sont différentes dans les deux cas.

Dans les expériences d'agglutination, l'acidité de la réaction dépend d'ailleurs surtout de celle de la suspension microbienne. Or, les suspensions microbiennes en eau physiologique que nous avons employées sont presque neutres. Et l'addition d'un extrait de plantes, même nettement acide, ne déplace qu'un peu vers l'acidité la réaction de l'ensemble.

C'est ainsi que dans un cas où l'extrait d'un tubercule de Pomme de terre présentait une acidité nette (5,842), l'addition de cet extrait, au taux de 1/100 à une suspension de Gärtner en eau physiologique a donné une solution de pH = 6,76, acidité insuffisante pour provoquer une agglutination d'acidité.

Outre les ions acides, on a signalé, dans le suc des plantes, certains principes agglutinant les bactéries que l'on trouve à la fois dans les plantes témoins et dans les plantes d'expérience. Ce sont les « pseudo-anticorps » des auteurs.

Nous avons fait, à plusieurs reprises, la recherche de ces « pseudo-anticorps ». Or, il s'est trouvé que dans le cas des plantes (*Vicia faba*, *Solanum tuberosum*, *Allium cepa*) et des microbes étudiés (*B. Gärtner*, *B. proteus*), les cas d'agglutination des bactéries par les extraits de plantes normales ont été extrêmement rares. Nous citons, avec l'expérience effectuée sur les extraits de *Solanum tuberosum*, un des rares cas où nous ayons observé une agglutination très nette par un extrait de plantes normales.

Mais, même dans le cas où l'agglutination se produit à la fois dans la série témoin et dans la série d'expérience, le phénomène spécifique ne peut être confondu souvent avec le phénomène non spécifique. Si l'on prépare, en effet, une échelle de dilutions assez étendue, on s'aperçoit alors que le taux de dilution limite pour l'agglutination n'est pas le même dans la série témoin et dans la série d'expérience. Les deux phénomènes sont juxtaposés, et peuvent souvent se distinguer l'un de l'autre. Et cette remarque répond, nous le pensons, à l'objection que formule Manil, entre autres auteurs, de la façon suivante :

« Pour conclure avec certitude, dans ce domaine, les auteurs qui ont obtenu des résultats qu'ils jugent positifs ne parlent pas de l'élimination préalable des pseudo-anticorps normaux, qui sont de nature, je pense, à troubler les résultats ».

II. — RECHERCHE DES PRÉCIPITINES.

Sur des extraits de plantes préparées de la façon indiquée plus haut, nous avons opéré la recherche d'anticorps au moyen de la technique de précipitation.

TECHNIQUE GÉNÉRALE. — La recherche des précipitines se fait, comme dans la technique médicale, en additionnant d'extraits de plantes en quantité variable, un filtrat de cultures

microbiennes âgées d'au moins un mois, obtenu par passage sur bougie Chamberland L3.

La réaction est mise une heure à l'étuve à 37°, puis laissée un temps variable à 20°, température du laboratoire.

Nous donnons ici le protocole de deux expériences qui nous ont donné un résultat particulièrement net.

EXPÉRIENCE 1. — *Plante employée* : *Vicia faba* inoculée suivant la méthode indiquée plus haut, de culture de *B. proteus* de vingt-quatre heures en bouillon Liebig. Seules les tiges de la plante ont été utilisées pour la recherche des anticorps.

Préparation de l'extrait de plantes : Les extraits ont été préparés après broyage et macération (suivant la technique 1, p. 41). Mais nous avons séparé l'extrait des plantes traitées et l'extrait des plantes normales témoins (inoculées d'eau salée) en plusieurs fractions, chaque fraction a été soumise à un mode spécial de filtration : a) filtration sur terre d'infusoire ; b) filtration sur noir animal ; c) filtration sur bougie L3.

Préparation du filtrat de cultures microbiennes : On filtre sur bougie L3, une culture microbienne vieille de trois semaines.

Préparation de l'expérience : On ajoute à X gouttes de filtrat de culture microbienne, I ou II gouttes de l'extrait de plantes, qui se trouve ainsi dilué au 1/5 ou au 1/10.

Résultat de l'expérience :

NATURE DE L'EXTRAIT	DILUTION	
	1/5	1/10
Extrait de plantes témoins filtré sur bougie Chamberland L3	—	—
Extrait de plantes témoins filtré sur terre d'infusoire	—	—
Extrait de plantes d'expérience filtré sur bougie Chamberland L3.	? (1)	?
Extrait de plantes d'expérience filtré sur terre d'infusoire.	+	+
Extrait de plantes d'expérience filtré sur noir animal	+++	+++
Filtrat de culture microbienne seul : pas de précipité.		

EXPÉRIENCE n° 2. — *Plante choisie* : *Vicia faba* inoculée trois fois, à huit jours d'intervalle à l'aide d'une culture en bouillon de *B. proteus*, de vingt-quatre heures. On sacrifie les plantes d'expérience quarante-

(1) Le précipité donné par ces deux tubes était peu abondant et nous n'avons pas pu interpréter ce résultat positivement.

huit heures après la dernière inoculation. On ne fait la recherche des anticorps que sur les tiges des plantes.

Pour servir de plantes témoin, on prépare, en même temps, une série de fèves inoculées aux mêmes dates avec de l'eau salée.

L'extraction du suc cellulaire se fait par broyage au mortier suivi de macération dans l'eau distillée (technique 1, p. 41). On filtre l'extrait sur terre d'infusoire.

Expérience : on emploie le filtrat d'une culture de *B. proteus* en bouillon, conservée un mois au laboratoire. La réaction se fait dans des tubes à hémolyse sous un volume de XX gouttes. L'extrait de la plante essayé est dilué au 1/10 et au 1/20 du volume total.

On place la réaction une heure à l'étuve à 37° et on la lit après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire.

Résultat :

NATURE DE L'EXTRAIT	DILUTIONS	
	1/10	1/20
Extrait de fèves préparées I	—	—
Extrait de fèves préparées II.	+	+
Extrait de fèves témoins inoculées d'eau physiologique	—	—

Le résultat de ces expériences a été net : nous avons obtenu un abondant précipité dans le cas du mélange du filtrat de culture microbienne avec l'extrait de plantes traitées et dans ce cas seulement. Ce résultat nous permet de conclure dans un sens positif quant à la formation d'anticorps précipitants par la plante. Le filtrat obtenu sur noir animal a été celui qui a présenté la plus forte réaction, dans le cas où l'on a effectué la recherche des précipitines dans un extrait de plantes soumis à différentes filtrations. La filtration sur noir animal est donc celle qui altère peut-être le moins, la composition de l'extrait de plantes.

La lecture des réactions de précipitation demande plus de soins encore que celle des réactions d'agglutination. Il se peut, en effet, que des précipitations de substances colloïdales en solution dans les extraits de plantes se produisent spontanément, et viennent interférer avec la réaction de précipitation due à l'action spécifique de l'antigène. Mais dans ce cas, la précipitation non spécifique se produit également dans le témoin. Toute expérience dans laquelle le témoin a précipité doit donc être écartée comme nulle.

III. — RECHERCHE DES LYSINES.

A. — *Par la technique de déviation du complément.*

A côté des anticorps coagulants (agglutinines et précipitines), on peut, en biologie animale, mettre en évidence chez les animaux inoculés avec certains antigènes, d'autres anticorps, dits lysants, qui ont pour effet d'agir sur ces antigènes pour les détruire à l'aide du complément, ou alexine, qui existe dans le sérum de la plupart des animaux.

En est-il de même chez les plantes ? C'est ce que nous avons cherché en utilisant pour nos extraits de plantes préparées, la technique de déviation du complément qui est employée couramment en sérologie pour rechercher les anticorps lysants.

Nous exposerons d'abord rapidement le principe sur lequel est basée la technique de déviation du complément, puis nous indiquerons comment nous avons appliqué cette méthode à la recherche des anticorps dans les extraits de plantes que nous étudions.

Les anticorps lysants sont capables de fixer sur l'antigène une substance qui existe dans le sérum de l'animal neuf, l'alexine ou complément, et qui a le pouvoir de lyser l'antigène. On donne à cet anticorps qui permet la destruction de l'antigène le nom de sensibilisatrice (il sensibilise l'antigène) ou d'ambocepteur (se fixant à l'alexine comme à l'antigène, il assure l'action de l'un sur l'autre). Cet anticorps est thermosstable ; l'alexine est thermolabile ; (elle est détruite par chauffage d'une demi-heure à 55°).

Supposons maintenant que nous ayons à rechercher si un sérum quelconque contient une sensibilisatrice élaborée contre un antigène déterminé. Si cette sensibilisatrice existe, elle est capable de fixer sur l'antigène l'alexine du sérum. Si nous ajoutons l'antigène, en quantité suffisamment élevée, au sérum, l'alexine présente dans ce sérum sera fixée et immobilisée. S'il n'y a pas de sensibilisatrice, au contraire, l'antigène et l'alexine resteront séparés et utilisables chacun de leur côté dans le sérum.

Naturellement, le changement qui se produit dans le sérum après addition de l'antigène n'est pas visible, et l'on ne peut

savoir, à première vue, s'il existait une sensibilisatrice ou s'il n'en existait pas. On a donc recours, pour mettre en évidence la réaction que nous venons de décrire, à l'artifice suivant : Après avoir effectué le premier temps de la réaction (addition de l'antigène au sérum), on ajoute un mélange de globules rouges et de sérum d'un animal antiglobules (c'est-à-dire préparé par des inoculations faites avec les mêmes globules), chauffé à 55° (donc privé de son alexine). Si l'alexine du sérum étudié est libre (parce qu'elle n'a pas été fixée sur l'antigène par une sensibilisatrice) elle sera fixée sur les globules rouges par la sensibilisatrice du sérum antiglobules, et les globules seront détruits. L'hémolyse ainsi produite se manifestera par la mise en liberté de l'hémoglobine dans le liquide de la réaction. Ce sera le signe d'une réaction négative (absence d'ambocepteur dans le sérum étudié). Si, au contraire, il n'y a plus d'alexine dans le sérum étudié (elle a été fixée sur l'antigène), les globules rouges restent intacts. L'absence d'hémolyse est le signe d'une réaction positive (présence d'ambocepteur dans le sérum étudié).

Pour mettre en œuvre ce principe, il existe plusieurs techniques. Nous avons adopté celle qui a été mise au point par Calmette et Massol en employant l'extrait de plantes au lieu du sérum de l'animal.

Les plantes employées (*Vicia faba*) ont été inoculées de la façon décrite plus haut (3 inoculations espacées de trois à dix jours : elles ont été hachées finement, mises à macérer pendant six heures dans l'eau distillée (3 parties de plantes en poids, pour 4 parties d'eau : la macération terminée, on a ajouté la quantité de chlorure de sodium nécessaire pour ramener à l'isotonie et éviter l'hémolyse due à l'action de l'eau distillée qui pourrait masquer le résultat de l'expérience. C'est sur l'extrait ainsi obtenu que nous avons effectué la recherche de l'anticorps.

La seule modification que nous avons apportée à la technique de Calmette et Massol est la suppression du chauffage à 55° de l'extrait étudié. Nous nous sommes, en effet, assuré, par une expérience préalable, qu'il n'y avait pas d'alexine dans l'extrait de plantes que nous étudions.

Les résultats de nos expériences sont consignés dans les tableaux suivants :

Expérience de déviation du complément du 4 avril 1933.

ALEXINE Nombre de doses	TÉMOIN <i>B. proteus</i>	EXTRAIT de plantes normales		EXTRAIT de plantes préparées	
		Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction
1	+	—	—	—	—
2	+	+	—		
3			—	+	±
4			±	+	+
5			+		
<i>Résultats</i>			+ 2 doses.		+ 0,5 dose.

Extraits plantes normales : extrait de plantes de *Vicia faba* âgées de un mois et demi.
 Extraits plantes préparées : extrait de plantes de *Vicia faba* âgées de un mois et demi, ayant reçu 3 inoculations de *B. proteus* à huit jours d'intervalle.

Les expériences dont nous donnons ici le résultat sont peu nombreuses et ne nous permettent pas encore de formuler une

Expérience de fixation du complément du 28 avril 1933.

ALEXINE Nombre de doses	TÉMOIN <i>PROTEUS</i>	FIXATION DU COMPLÉMENT par extrait plantes normales				FIXATION DU COMPLÉMENT par extrait plantes préparées			
		Extrait feuilles		Extrait tiges		Extrait feuilles		Extrait tiges	
		Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction
1	±	+	—						
2	+	+	—	+	—	+	—	+	—
3			±		±		±		±
4			±		+				±
5			+						+
<i>Résultats</i>			+ 2 doses.		+ 1 dose.		+ 1 dose.		+ 3 doses.

Extraits plantes normales : extrait de plantes de *Vicia faba* âgées de un mois et demi : extrait de feuilles, extrait de tiges.
 Extraits plantes préparées : extrait de plantes de *Vicia faba* âgées de un mois et demi, ayant reçu 3 inoculations de *B. proteus* : extrait de feuilles, extrait de tiges.

conclusion nette au sujet de l'élaboration d'anticorps lytiques chez la plante préparée.

Expérience de déviation du complément du 11 avril 1933.

ALEXINE Nombre de doses	TÉMOIN PROTEUS	FIXATION DU COMPLÉMENT par extrait plantes normales						FIXATION DU COMPLÉMENT par extrait plantes préparées					
		Extrait n° 1'		Extrait n° 2'		Extrait n° 3'		Extrait n° 1		Extrait n° 2		Extrait n° 3	
		Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction	Témoin extrait	Réaction
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3													
4													
5													
Résultats.		0 dose.		0 dose.		0 dose.		2 doses		0 dose.		0 dose.	
Extrait n° 1' : plantes de <i>Vicia faba</i> normales, extrait de feuilles, par macération.													
Extrait n° 2' : plantes de <i>Vicia faba</i> normales, extrait de tiges, par macération.													
Extrait n° 3' : plantes de <i>Vicia faba</i> normales, extrait de tiges, par broyage.													
Extrait n° 1 : plantes de <i>Vicia faba</i> inoculées de <i>B. proteus</i> (3 inoculations), extrait de feuilles, par macération.													
Extrait n° 2 : plantes de <i>Vicia faba</i> inoculées de <i>B. proteus</i> (3 inoculations), extrait de tiges, par macération.													
Extrait n° 3 : plantes de <i>Vicia faba</i> inoculées de <i>B. proteus</i> (3 inoculations), extrait de tiges, par broyage.													

Nous ne les avons pas multipliées parce que nous n'espérons pas, avec le matériel et les techniques que nous possédons actuellement, obtenir des résultats meilleurs. Les quantités d'anticorps formés par la plante ne sont pas suffisantes jusqu'ici pour que la méthode de déviation du complément employée soit capable de les mettre complètement en évidence, et de faire le départ entre les lysines normales d'une plante et celle qu'elle a développées à la suite de l'inoculation d'un antigène.

L'examen des tableaux montre, en effet, que les réactions de déviation sont positives : trois fois avec les plantes normales (3 doses d'alexine fixées) ; quatre fois avec les plantes préparées (6 doses d'alexine fixées).

Nous ne pouvons donc, de ces résultats, tirer aucune conclusion positive.

Nous les rapportons cependant à titre de contribution à l'étude que nous avons entreprise, et parce que nous avons employé là une technique de déviation qui n'avait pas encore, à notre connaissance, été utilisée pour les végétaux.

Nous citerons, de plus, l'expérience suivante qui nous a donné un résultat nul lors de la recherche, dans un extrait de plantes, de principe lysant ou sensibilisant pour les hématies de mouton.

Nous avons inoculé à une série de plantes (*Vicia faba*) des hématies de mouton en suspension dans l'eau physiologique, et dilué au 1/10 du taux de densité normale dans le sang. Chaque plante recevait à 3 reprises, 1 cent. cube de cette suspension à huit jours d'intervalle.

A la fin de cette période, nous avons préparé un extrait de plantes traitées et un extrait de plantes témoins, selon notre technique habituelle.

C'est sur ces deux extraits que nous avons recherché la présence de principes hémolysants.

Nous avons d'abord mis en présence l'extrait de plantes, normales ou préparées, et une suspension de globules rouges. Dans aucune de ces deux séries, l'hémolyse ne s'est produite :

Pas d'hémolyse.

- 1 cent. cube extrait plantes préparées + 1 cent. cube suspension au 1/10 du taux normal de globules en eau physiologique.
- 1/2 cent. cube extrait plantes préparées + 1 cent. cube suspension au 1/10 du taux normal de globules en eau physiologique.
- 1 cent. cube extrait plantes normales + 1 cent. cube suspension au 1/10 du taux normal de globules en eau physiologique.
- 1/2 cent. cube extrait plantes normales + 1 cent. cube suspension au 1/10 du taux normal de globules en eau physiologique.

La réaction a été mise à l'étuve à 37° pendant une heure. La lecture des résultats a été faite au sortir de l'étuve et dix-huit heures après.

L'extrait de *Vicia faba* normale ou préparée ne contenait donc pas, dans les conditions de notre expérience, un de ces principes signalés pourtant par quelques auteurs, capables de produire l'hémolyse des globules rouges.

Nous avons complété notre expérience en recherchant si ces extraits contenaient un principe semblable à l'alexine, capable

de lyser les hématies si celles-ci avaient, au préalable été sensibilisées. Nous avons donc préparé la série de réactions suivantes :

Pas d'hémolyse.

1 cent. cube extrait plantes préparées + 1 cent. cube globules sensibilisés.

1/2 cent. cube plantes préparées + 1 cent. cube globules sensibilisés.

1 cent. cube plantes normales + 1 cent. cube globules sensibilisés.

1/2 cent. cube plantes normales + 1 cent. cube globules sensibilisés.

Nous n'avons obtenu l'hémolyse dans aucun de ces mélanges. L'extrait de ces plantes ne contenait donc pas de principes semblables à l'alexine.

Enfin pour voir si la plante n'avait pas élaboré, dans le cas où elle avait été soumise à des inoculations d'hématies de mouton, un anticorps analogue à une sensibilisatrice, nous avons disposé la réaction suivante :

Pas d'hémolyse.

1 cent. cube extrait plantes préparées + 1 cent. cube globules non sensibilisés + 1 dose minima hémolytique d'alexine.

1/2 cent. cube + extrait plantes préparées + 1 cent. cube globules non sensibilisés + 1 dose minima hémolytique d'alexine.

1 cent. cube extrait plantes normales + 1 cent. cube globules non sensibilisés + 1 dose minima hémolytique d'alexine.

1/2 cent. cube extrait plantes normales + 1 cent. cube globules non sensibilisés + 1 dose minima hémolytique d'alexine.

Nous n'avons donc pas décelé dans cette série de réactions, la présence, dans l'extrait de *Vicia faba*, préparée ou non par des inoculations d'hématies de mouton, de principe semblable à une sensibilisatrice, à une alexine ou à un agent hémolytique quelconque.

B. — *Par lyse effectuée « in vitro ».*

Nous avons vu, dans les expériences précédentes, que les plantes inoculées par des cultures bactériennes réagissaient à l'inoculation de ces cultures, par formation d'anticorps : agglutinines et précipitines. La recherche de sensibilisatrice nous a conduit à des résultats beaucoup moins nets. Mais, nous avons pensé que ces sensibilisatrices, en général des lysines, pouvaient peut-être se mettre en évidence d'une autre façon. Les expériences d'inoculation sur les cobayes, d'extraits de plantes préparées que nous exposerons plus loin dans

ce travail, mais que nous menions parallèlement avec nos recherches techniques sérologiques, nous montraient, par ailleurs, que tout se passait comme si la plante formait une quantité relativement importante de bactériolysines.

La recherche des bactériolysines est d'un emploi courant en sérologie animale : elle consiste à mettre en contact une émulsion microbienne et un sérum bactériolytique, frais ou additionné d'alexine, pendant des temps variables et de faire une numération par culture en gélose, d'une part de l'émulsion bactérienne seule, d'autre part du mélange sérum-émulsion. La diminution du nombre de germes comptés dans le deuxième cas, par rapport à celui relevé dans le premier, indique l'existence de l'action bactériologique du sérum, et permet d'en évaluer l'importance. C'est cette technique que nous avons suivie. Nous n'avons pas ajouté d'alexine à nos extraits parce que nous avons démontré, dans une de nos expériences, que ce corps n'existait pas dans les plantes normales. Certains auteurs ont cependant mis en évidence, dans certaines plantes, un agent lytique analogue à l'alexine. Peut-être est-ce la présence de cet agent qui a, au cours de nos expériences, permis la lyse bactérienne que nous avons constatée. Quoi qu'il en soit, cette lyse existe, l'expérience suivante en fait foi.

Nous nous sommes adressé à un matériel infecté naturellement, et nous avons choisi des légumineuses infectées de leurs bactéries commensales.

Nous avons, dans ce but, fait en serre, deux cultures de *Vicia sativa* : l'une en terre ordinaire (qui a donc formé des nodosités bactériennes) ; l'autre en terre préalablement stérilisée au formol (qui s'est donc trouvée privée de nodosités).

De la première culture, nous avons isolé une souche de bactéries des nodosités. Et, une fois cet isolement fait, nous avons sacrifié les vesces des deux cultures. Nous les avons broyées, nous avons filtré sur bougie Chamberland L3 l'extrait ainsi obtenu.

Soit T : l'extrait obtenu à partir des plantes privées de nodules ;

Soit E : l'extrait obtenu à partir des plantes à nodules.

Dans trois tubes à essais, nous avons opéré les mélanges suivants :

Nous avons porté le tout au frigorifique à -3° et laissé dix jours en contact les différents liquides.

Puis nous avons compté le nombre de germes au centimètre cube. Les résultats ont été les suivants :

Tube eau stérile.	75.000 germes par centimètre cube.
Tube T	55 000 germes par centimètre cube.
Tube E	25.000 germes par centimètre cube.

Il existe donc, dans l'extrait de plantes infectées de nodosités bactériennes, un principe qui produit *in vitro*, une dimi-

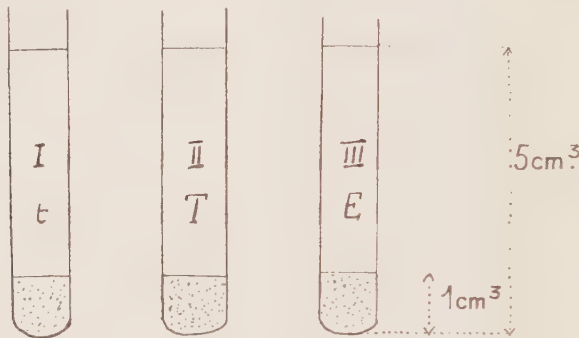


FIG. 2. — Tube I. 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures de bactéries de nodosités en bouillon + 4 cent. cubes d'eau stérile.

Tube II. 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures de bactéries de nodosités en bouillon + 4 cent. cubes d'extrait de plantes sans nodules.

Tube III. 1 cent. cube de culture de vingt-quatre heures de bactéries de nodosités en bouillon + 4 cent. cubes d'extrait de plantes à nodules.

nution du nombre de germes, qui sont mis en contact avec cet extrait.

Cette expérience apporte un argument de plus à notre théorie de la nature lytique de certains anticorps élaborés par la plante.

INOCULATION A DES ANIMAUX DE LABORATOIRE DE MÉLANGES DE CULTURES MICROBIENNES ET D'ANTICORPS ÉLABORÉS PAR LES PLANTES.

Les résultats positifs des expériences que nous avons rapportées plus haut permettaient de conclure à la présence, dans

le suc de la plante infectée par une bactérie, de substances élaborées dans la lutte contre cette bactérie.

Nous avons pensé d'abord que ces substances, ou une partie d'entre elles, pouvaient avoir des propriétés vaccinales. Inoculées en mélange avec l'antigène qui les avait fait naître, elles pouvaient peut-être protéger un organisme contre l'action pathogène de cet antigène.

Nous avons, à ce moment, comme matériel, des plantes (*Vicia faba*) inoculées de *B. proteus*. Ces plantes, chez lesquelles nous avons déjà démontré la formation d'agglutinines et de précipitines, avaient peut-être élaboré ce principe vaccinant dont nous supposons l'existence.

Mais le *B. proteus* n'est pas pathogène pour les fèves, et nous avons dû utiliser, pour mettre en évidence le principe vaccinant, un sujet d'expérience réceptif pour *B. proteus*. Nous avons choisi le cobaye. Si l'extrait de plantes a un pouvoir protecteur, les réactions du sujet inoculé avec un mélange d'extrait de plantes et de culture de *B. proteus* seront moins violentes que celles du sujet qui aura reçu le *B. proteus* seul.

Nous avons donc fait une série d'expériences dans lesquelles nous inoculions à des cobayes, des mélanges, aux proportions variables, d'extraits de plantes préparées avec *B. proteus* et de cultures de *B. proteus*. Nous inoculions en même temps, comme témoins, d'autres cobayes avec :

- a) des mélanges d'extraits de plantes normales et de cultures de *B. proteus* ;
- b) des extraits de plantes, préparées ou non ;
- c) des cultures de *B. proteus* seul.

Les cultures de *B. proteus* étaient faites en bouillon Liebig et vieilles de vingt-quatre heures.

Les extraits de plantes étaient obtenus par broyage et macération des plantes étudiées (suivant la technique 1, p. 41). Seules les tiges des plantes avaient été utilisées.

Nous avons consigné, dans les tableaux suivants, les résultats de nos expériences

CORYNES TÉMOINS			CORYNES PRÉPARÉS	
Corynes inoculés avec des extraits de plantes traitées	Corynes inoculés avec des cultures de <i>B. proteus</i>	Corynes inoculés avec mélange culture de <i>B. proteus</i> + extrait de plantes normales	Corynes inoculés avec mélange culture de <i>B. proteus</i> + extraits de plantes traitées	
5 cent. cubes : aucun syndrome.	0 c. c. 5 P. : amaigrissement (482 gr., 465 gr., 470 gr.). Guérison. 1 cent. cube P. : amaigris- ment. Guérison.	0 c. c. 5 P. + 3 cent. cubes : amaigrissement (475 gr., 400 gr., 420 gr.). Guérison. 1 cent. cube P. + 5 cent. cubes : amaigrissement (380 gr., 340 gr., 390 gr.). Guérison. 1 c. c. 5 P. + 1 cent. cube : amaigrissement. Guérison.	0 c. c. 5 P. + 3 cent. cubes : amaigrissement (430 gr., 400 gr., 410 gr.). Guérison. 1 cent. cube P. + 5 cent. cubes : aucun syndrome. 1 c. c. 5 P. + 4 cent. cube : amaigrissement. Guérison.	
	1 c. c. 5 P. : amaigrissement (495 gr., 480 gr., 495 gr.). Guérison.	1 c. c. 5 P. + 3 cent. cubes : amaigrissement (488 gr., 475 gr., 505 gr.). Guérison. 1 c. c. 5 P. : 5 cent. cubes : amaigrissement (460 gr., 435 gr., 470 gr.). Guérison. 1 c. c. 5 P. + 5 cent. cubes : mort dans les 48 heures. 2 cent. cubes P. + 2 cent. cubes : amaigrissement (505 gr., 475 gr., 482 gr.). Guérison	1 c. c. 5 P. + 3 cent. cubes : amaigrissement (475 gr., 455 gr., 460 gr.). Guérison. 1 c. c. 5 P. + 5 cent. cubes : mort dans les 42 heures. 1 c. c. 5 P. + 5 cent. cubes : mort dans les 12 heures. 2 cent. cubes P. + 2 cent. cubes : mort dans les 12 heures.	
	2 cent. cubes P. : amaigris- sment (440 gr., 430 gr., 450 gr.). Guérison.	2 cent. cubes P. + 5 cent. cubes : mort dans les 12 heures. 2 c. c. 5 P. + 2 c. c. 5 : mort dans les 12 heures	2 cent. cubes P. + 5 cent. cubes : mort dans les 12 heures. 2 c. c. 5 P. + 2 c. c. 5 : mort dans les 12 heures.	
	2 c. c. 5 P.			
	3 cent. cubes P. : mort dans les 12 heures. 5 cent. cubes P. : mort dans les 42 heures			

Lésions relevées à l'autopsie d'un cobaye inoculé de 3 cent. cubes de bouillon de culture de *B. proteus*.

Mort en vingt-quatre heures.

Péritonite;
Rate normale;
Suffusion sanguine à l'estomac;
Intestin normal;
Vésicule biliaire normale, remplie de bile;
Ganglions inguinaux et mésentériques.

Comparaison des lésions relevées à l'autopsie de deux cobayes.

<i>Cobaye témoin :</i>	<i>Sujet d'expérience :</i>
Proteus. 2 c.c. 5	Proteus. 2 c.c. 5
Extrait plantes normales . . 2 c.c. 5	Extrait plantes préparées . . 2 c.c. 5
Péritoine normal.	Péritonite aiguë, purulente.
Rate normale.	Rate hypertrophiée, noire.
Estomac normal.	Suffusions sanguines dans les parois de l'estomac.
Légère congestion du tractus intestinal.	Congestion intense de tout l'intestin qui renferme des liquides et des gaz.
Vésicule biliaire normale, gonflée de bile.	Vésicule biliaire à parois rétractées, vide.
Ganglions légèrement congestionnés (mésentérique et cœcal).	Ganglions fortement congestionnés.

Comparaison des lésions présentées par deux cobayes.

<i>Cobaye témoin :</i>	<i>Sujet d'expérience :</i>
Proteus. 1 c.c. 5	Proteus. 1 c.c. 5
Extrait plantes normales . . 5 cent. cubes.	Extrait plantes anti-proteus . . 5 cent. cubes.
Douleur à la palpation.	Mort en 24 heures.
Amaigrissement (460 grammes, 435 grammes, 470 grammes).	Péritonite aiguë purulente.
Guérison.	Rate noire.
	Suffusions sanguines à l'estomac.
	Congestion intense de tout l'intestin qui renferme des liquides et des gaz.
	Vésicule biliaire vide à parois rétractées.
	Ganglions mésentérique et cœcal fortement congestionnés.
	Congestion pulmonaire.

Les animaux témoins inoculés avec un extrait de plantes normales ou préparées ne présentent aucun symptôme pathologique.

Nous avons plus tard répété cette expérience, mais en variant le matériel étudié.

Le microbe d'essai était le *B. Gärtner*, que l'on inoculait à *Solanum tuberosum*, sur lequel s'opérait comme précédemment la recherche des anticorps par passage sur le cobaye.

Nous avons, dans ce but, inoculé trois séries de cobayes :

Chaque cobaye de la première série a reçu une certaine quantité de culture de vingt-quatre heures, de *B. Gärtner* en bouillon ;

Chaque cobaye de la seconde série a reçu la même quantité de *B. Gärtner* que le cobaye correspondant de la première série, mais en mélange avec 5 cent. cubes d'extrait de *Solanum tuberosum* normal ;

Chaque cobaye de la troisième série a été traité de la même façon que le cobaye correspondant de la seconde, mais il a reçu de l'extrait de *Solanum tuberosum* anti-Gärtner à la place de l'extrait de *Solanum tuberosum* normal.

Une grande différence s'est manifestée entre les durées de survie des cobayes des différentes séries. Nous avons consigné ces durées de survie dans le tableau suivant :

Durée de survie de cobayes inoculés avec *B. Gärtner* additionné ou non d'extrait de plantes.

<i>B. Gärtner</i> seul	<i>B. Gärtner</i> + extrait plantes normales	<i>B. Gärtner</i> + extrait plantes préparées
1 cent. cube de culture de 24 heures de <i>B. Gärtner</i> en bouillon : survie de 8 jours.	1 cent. cube G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 10 jours.	1 cent. cube G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 6 jours.
1 c. c. 5 : survie de 7 jours.	1 c. c. 5 G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 4 jours.	1 c. c. 5 G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 1 jour.
2 cent. cubes : survie de 2 jours.	2 cent. cubes G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 1 jour.	2 cent. cubes G. + 5 cent. cubes extrait : survie de 1 jour.
Poids moyen : 400 grammes. Expérience du 8 mai 1936. Extrait de plante seul : pas de symptômes pathologiques.		

Les différences entre les caractères pathogènes des liquides inoculés s'exercent dans le même sens que l'expérience avec le *B. proteus*. C'est-à-dire que :

COBAYES TÉMOINS (INOCULATION AU PÉRITOINE)				COBAYES D'EXPÉRIENCE	
Extrait de plantes normales	Extrait de plantes d'expérience	Culture de <i>B. Gärtner</i>	Culture de <i>B. Gärtner</i> + extrait de plantes non préparées	Culture de <i>B. Gärtner</i> + extrait de plantes préparées	
5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	1 cent. <i>cube</i> : mort en 8 jours. Absès au point d'inoculation, rate petite, mais congestionnée, capsule sur-rogée normale, ganglions à l'aîne et à l'aisselle légèrement congestionnés.	1 cent. <i>cube</i> <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> plantes non préparées : mort en 40 jours.	1 cent. <i>cube</i> <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> extrait plantes préparées : mort en 6 jours. Ganglions à l'aîne et à l'aisselle hypertrophiés, péritonite, rate congestionnée.	
5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	1 c. c. 5 : mort en 7 jours. Péritonite, rate hypertrophiée et congestionnée, pleurésie, pus sur le foie et la rate.	1 c. c. 5 <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> plantes non préparées : mort en 4 jours. Péritonite purulente, liquide dans l'intestin, ganglions des aînes congestionnés et hypertrophiés.	1 c. c. 5 <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> plantes préparées : mort en 24 heures. Gros adème au point d'inoculation, péritonite purulente, ganglions mésentériques hypertrophiés et congestionnés.	
5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	5 cent. <i>cubes</i> : aucune réaction.	2 cent. <i>cubes</i> : mort en 2 jours. Péritonite purulente, ganglions à l'aîne et à l'aisselle congestionnés, pus sur le foie, rate congestionnée, gaz et liquide dans l'intestin, ganglion mésentérique congestionné et hypertrophié, intestin très dilaté.	2 cent. <i>cubes</i> <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> plantes non préparées : mort en 24 heures. Péritonite un peu congestionnée, mésentère et épiploon très congestionnés, ganglion mésentérique congestionné, rate congestionnée.	2 cent. <i>cubes</i> <i>G.</i> + 5 cent. <i>cubes</i> plantes préparées : mort en 24 heures. Péritonite purulente, ganglions des aînes et des aisselles congestionnés, ganglion mésentérique hypertrophié et congestionné, rate les congestionnée, gaz et liquide dans l'estomac et l'intestin.	

Si l'on inocule 1 cent. cube de culture de *B. Gärtner* seule à un cobaye, le cobaye meurt, en moyenne, en huit jours.

Si l'on inocule 1 cent. cube de culture de *B. Gärtner* en mélange avec 5 cent. cubes d'extrait de plantes normales à un cobaye identique, celui-ci meurt à peu près dans les mêmes délais que le précédent, ou parfois un peu plus vite.

Enfin, si l'on inocule à un cobaye, un mélange de culture de *B. Gärtner* et d'extrait de plantes anti-Gärtner, la mort arrive deux fois plus vite.

L'extrait de plantes anti-Gärtner contient donc un principe capable d'activer la virulence du *B. Gärtner*.

Les résultats de cette expérience ont été peut-être plus nets que ceux de l'expérience avec le *B. proteus*. Ce dernier germe se montrait, en effet, si pathogène pour le cobaye qu'il était difficile d'obtenir des péritonites à évolution lente et que les différences entre les survies des cobayes, indice des différences entre les caractères pathogènes des mélanges inoculés, étaient beaucoup plus faibles.

L'étude des résultats de nos expériences nous conduit aux conclusions suivantes :

1° *Les extraits de plantes*, qu'elles soient préparées ou non, ne sont pas nocifs pour le cobaye (en injection intrapéritonéale, même au taux élevé de 5 cent. cubes).

2° *Le Bacille proteus* que nous avons utilisé dans nos expériences s'est montré pathogène pour le cobaye dans les conditions suivantes : en injection intrapéritonéale, une culture de vingt-quatre heures en bouillon Liebig n'amène pas la mort si elle est inoculée à des doses variant de 0 c. c. 3 à 2 cent. cubes. Le sujet inoculé présente seulement des troubles péritonéaux d'intensité variable, un amaigrissement passager, puis la guérison survient. Les doses supérieures à 3 cent. cubes amènent la mort dans les vingt-quatre heures. Les lésions relevées à l'autopsie sont les suivantes : péritoine congestionné, avec liquide dans le péritoine dans certains cas, quelques suffusions sanguines à l'estomac, ganglions inguinaux, mésentérique et lombaire hypertrophiés.

3° *L'inoculation des mélanges de culture de B. proteus et d'extraits de plantes* produit des symptômes différents de ceux observés à la suite d'inoculation de *B. proteus* seul. Ces symp-

tômes diffèrent en outre, entre eux, suivant que la plante a été ou non préparée par inoculation de *B. proteus* seul.

En résumant brièvement nos observations, nous pouvons dire que *la dose mortelle de culture de B. proteus est atteinte plus rapidement si l'on ajoute un extrait de Vicia faba que si l'on n'en ajoute pas.*

Alors que pour un cobaye de 450 à 500 grammes la dose mortelle de *B. proteus* est de 3 cent. cubes quand on l'inocule seul, elle n'est plus que de 2 c. c. 5 quand on l'inocule en mélange avec un extrait de plantes normales et de 1 c. c. 5 quand on l'inocule avec un extrait de plantes préparées.

De plus, et c'est le résultat qui se dégage le plus nettement de nos expériences : *les symptômes présentés par les cobayes inoculés avec des mélanges de culture de B. proteus et d'extraits de plantes préparées sont plus sévères que ceux présentés par les cobayes inoculés avec des mélanges de cultures de B. proteus et d'extraits de plantes normales, et les lésions relevées à l'autopsie sont toujours plus étendues.*

Nous renvoyons, pour illustrer cette affirmation, au tableau (p. 69) indiquant les conditions dans lesquelles la mort s'est produite, et ceux dans lesquels sont consignés la différence relevée à l'autopsie entre les lésions des cobayes inoculés avec les mélanges.

Nous avons exceptionnellement constaté (cas des faibles doses de *B. proteus*, 1 cent. cube et 1 c. c. 5) que le cobaye inoculé avec des cultures de *B. proteus* additionnées d'extraits de plantes préparées présentait des symptômes pathologiques moins accentués que les cobayes inoculés avec du *B. proteus* seul, ou avec du *B. proteus* additionné d'extraits de plantes normales.

Les phénomènes que nous avons observés au cours de nos expériences sont donc complexes à analyser. Mais tous conduisent à conclure que l'injection, dans le péritoine d'un cobaye, d'un mélange de bouillon de culture de *B. proteus* et d'extraits de plantes préalablement inoculées avec du *B. proteus*, provoque des symptômes différents de ceux que l'on observe lorsqu'on inocule à un cobaye une culture de *B. proteus* seule ou additionnée d'extraits de plantes normales. Le sens dans lequel se produit cette différence (augmentation ou

diminution des symptômes) importe peu à notre thèse. Le fait important est qu'elle existe et qu'elle ne peut s'expliquer que par l'existence d'un anticorps formé par la plante préparée.

Les phénomènes observés peuvent être expliqués ainsi :

L'extrait de *Vicia faba* normal exerce en dehors de la présence de tout principe élaboré contre le *B. proteus*, une action sur les cultures de ce bacille. Ce fait indéniable est démontré par l'abaissement de la dose mortelle de *B. proteus* (1 c. c. 5 ou 2 cent. cubes, ou 2 c. c. 5 selon la quantité d'extrait de plantes ajoutée), au lieu de 3 cent. cubes dans le cas où la culture de *B. proteus* est injectée seule. Il faut donc admettre la présence, dans la plante normale, préalablement à toute préparation, d'une substance capable d'agir sur le microbe qu'on lui ajoute, pour en augmenter la virulence. Il est peu vraisemblable que ce soit au développement de ce germe dans l'extrait même qu'il faille attribuer l'action que nous rapportons. Nous indiquons cependant cette possibilité.

Mais l'extrait de *Vicia faba* inoculé avec des cultures de *B. proteus* a une action beaucoup plus forte sur les cultures de ce bacille que l'extrait de plantes normales.

Dans deux cas seulement, ceux où nous avons inoculé de faibles doses de *B. proteus*, les cobayes qui ont reçu l'extrait de plantes préparées ont moins souffert que les autres. Et si nous avions borné là notre expérience, nous aurions pu conclure à la présence de ce principe vaccinant que nous recherchions.

Dans tous les autres cas, au contraire, ceux où les doses de *B. proteus* inoculées ont été beaucoup plus fortes (1 c. c. 5 à 2 c. c. 5), l'action de l'extrait de plantes préparées a excité la virulence du microbe : la mort est arrivée plus fréquemment que chez les témoins, plus rapidement, et les lésions constatées à l'autopsie ont été plus étendues. Tout se passe comme si l'extrait de plantes préparées contenait une substance élaborée qui agit sur le microbe pour exalter sa virulence.

Peut-on, à la lumière des théories de l'immunité aujourd'hui admises, expliquer ces faits ?

Rappelons à ce sujet, pour mémoire, les différentes catégories que Maurice Nicolle établit dans les anticorps :

« Les anticorps artificiels peuvent être divisés en trois

groupes suivant la nature des « corps » ou antigènes correspondants :

« a) les anticorps des cellules animales, végétales ou microbiennes, comprennent deux types bien connus et diamétralement opposés dans leur action : les *cytocoagulines* (agglutinines) et les *cytolysines*. Les cytocoagulines, agents de condensation, modifient l'état physique et chimique de tous les éléments sensibles, morts ou vivants, et paralysent, durant leur vie, ceux de ces éléments qui sont doués de mobilité. Ils ne déterminent le phénomène de l'agglomération qu'*in vitro* (ou *in vivo*, dans des conditions rares et pratiquement équivalentes). Les cytolysines, agents de décondensation, attaquent les cellules d'une façon plus ou moins brutale et en libèrent des poisons auxquels on peut donner le nom d'endotoxines vraies ». L'intoxication résultante n'est toutefois réalisable que si la cytolyse s'accomplit assez vite et intéresse, bien entendu, une masse suffisante de substance cellulaire. Cette cytolyse se manifeste *in vitro*, dans certain cas, à un degré plus ou moins marqué ;

« b) les anticorps des matières albuminoïdes animales, végétales ou microbiennes qui jouissent du pouvoir antigène, comprenant les *albumino-coagulines* (précipitines) et les *albumino-lysines* (conception nouvelle). Les albumino-coagulines condensent les substances sensibles, mais ne les précipitent qu'*in vitro*. Les albumino-lysines attaquent les matières albuminoïdes et en libèrent, ici encore, les endotoxines vraies. On peut considérer comme endotoxines brutes les portions de la substance des cellules et les constituants des extraits cellulaires et les humeurs qui engendrent les endotoxines vraies lors de la cytolyse et de l'albuminolyse. Cette dernière ne s'accompagne *in vitro*, d'aucune modification discernable ;

« c) les anticorps des « toxines solubles » animales, végétales ou microbiennes, comprenant les *toxinocoagulines* (antitoxines) et les *toxynolysines* (conception nouvelle). Les toxinocoagulines condensent les toxines (brutes) sensibles sans que cette condensation se manifeste à l'œil nu, (au microscope), ou à l'ultramicroscope. Les toxynolysines attaquent ces mêmes toxines et en libèrent les toxines vraies, sans qu'il y ait non plus de changements visibles *in vitro*. On peut considérer

comme toxines brutes les constituants des extraits cellulaires ou des filtrats microbiens qui engendrent les toxines vraies lors de la toxinolyse. Inutile de rappeler que, bien souvent, on introduit à la fois, dans l'organisme animal, des endotoxines brutes et des toxines brutes, sous des formes concrètes d'ailleurs très variées ».

Tout se passe, dans nos expériences, comme si les anticorps produits par la plante après traitement par des cultures de *B. Proteus*, étaient de ces deux types désignés par M. Nicolle sous les noms de : cytoagglutinines et de cytolyssines.

En fait, nous avons mis en évidence des agglutinines *in vitro* dans de semblables extraits, et des lysines. Or, les proportions de ces deux catégories d'anticorps peuvent varier, de même que les proportions de ces anticorps avec l'antigène.

« Les antigènes, écrit M. Nicolle, subissent, de la part de l'organisme, une véritable digestion (Metchnikoff). Or, on admet de plus en plus aujourd'hui, que tout acte digestif exige le concours successif d'une coaguline et d'une lysine. La même conception s'impose d'autant mieux, pour expliquer le mode d'action des anticorps normaux, que ceux-ci nous apparaissent toujours sous les formes exclusives de coagulines et de lysines. Toutefois, les proportions respectives des deux anticorps peuvent varier et les effets produits traduisent ces variations. Ainsi, étant donné un antigène déjà toxique, si la coagulation est forte, la lyse (secondaire) demeurera lente et la substance étrangère disparaîtra, petit à petit, sans avoir altéré l'organisme par les poisons vrais qu'elle recélait et qui ont été libérés à doses constamment imperceptibles ; si la coagulation est faible, la lyse sera rapide et suivie d'une intoxication plus ou moins marquée selon les cas. »

Le cas où l'addition à la culture de *B. proteus*, d'un extrait de plantes préparées semble neutraliser cet effet serait celui où la coagulation des cellules pathogènes est rapide, presque totale et la lyse lente à s'effectuer ; au contraire, le cas où la virulence de la culture est exagérée par l'addition de ce même extrait (cas des doses plus fortes de *B. proteus*) serait celui où la coagulation serait lente, ou n'atteindrait qu'une petite part de la dose inoculée, alors que la lyse s'étendrait rapidement à tous les germes de *B. proteus*

inoculés. Il y a, dans ce cas, immunisation ; et dans l'autre, hypersensibilisation, mais les processus sont les mêmes. Seules varient leurs ampleurs respectives.

Nous n'avons pas pu, jusqu'ici, au cours de nos expériences, déterminer les conditions dans lesquelles se formait de préférence l'un ou l'autre anticorps. Nous aurions dû envisager systématiquement l'influence du mode d'extraction du suc cellulaire, l'influence des proportions du mélange, l'influence du mode d'inoculation, etc... Nous ne pouvions pas finir un tel travail avant un temps assez long parce que l'importance de chacun de ces facteurs nous est actuellement inconnue, et ceci explique l'inconstance de nos résultats. Mais cette inconstance ne peut pas nous empêcher de conclure avec certitude à l'apparition d'un anticorps lytique ou coagulant dans l'extrait de plantes inoculées à l'aide d'un germe donné.

Il est intéressant de rapprocher de notre hypothèse sur la prépondérance de lysines dans les anticorps élaborés par les plantes, l'expérience suivante dont nous trouvons le détail dans la publication de Manil : « Contribution à l'étude de l'immunité chez les plantes ».

Manil, recherchant si certains microbes pathogènes aux plantes (*B. tabacum*, *B. syringæ*) provoquent la nécrose des tissus par l'émission d'une toxine, fut amené à étudier l'action des filtrats des cultures de ces germes sur les tissus végétaux.

Il cultivait ces bactéries sur des milieux divers, à des pH variables, puis inoculait des filtrats de ces cultures (obtenus sur bougie Chamberland L3) à des plantes d'expérience (Tabacs, Lilas, Haricots). Il ne parvenait jamais à mettre en évidence, de cette façon, une action toxique de ces filtrats.

Il eut alors l'idée de préparer des extraits de feuilles de tabac infectées de *B. tabacum*. Cet extrait obtenu par broyage, est filtré sur papier. Le liquide limpide obtenu ainsi est inoculé à des feuilles de tabac. Comme il contient des germes de *B. tabacum*, il provoque, sur les feuilles, des lésions caractéristiques. Mais le fait intéressant est le suivant : « Cet extrait produit plus rapidement les lésions typiques qu'un bouillon de cultures de vingt-quatre heures, alors que le nombre de bactéries par centimètre cube est beaucoup plus grand dans le deuxième cas que dans le premier ». Et Manil, qui par

ailleurs a nié l'émission de toxines par les bactéries pathogènes aux plantes (se basant sur les essais faits avec les filtrats de culture *in vitro*), en conclut « au caractère particulièrement infectieux de l'extrait filtré sur papier, de feuilles malades », et à la présence, dans cet extrait, « de quelque chose qui augmente la virulence ».

Nous n'avons pu, nous-même, refaire cette expérience, venue à notre connaissance à la fin de la rédaction du présent travail. Nous la rapportons telle quelle, pensant qu'il est intéressant de la rapprocher des nôtres. Ne s'agirait-il pas, dans ces extraits de plantes, d'une lysine élaborée par la plante, et mettant en liberté les endotoxines des bactéries, qui, bien que Manil n'ait pas réussi à les mettre en évidence, sont peut-être un des moyens d'action de la bactérie pathogène à la plante aussi bien que de celle pathogène à l'animal ?

Enfin, nous noterons également que Kostoff suggère la possibilité de la présence de lysines dans les tissus des bourrelets de greffe qu'il décrit comme le siège d'une importante formation d'anticorps. Il étaye son hypothèse par l'observation qu'il a faite relativement à l'accumulation des acides aminés dans les tissus de la greffe. Il est vrai que ce fait a été interprété de façon tout autre par Silberschmidt qui voit là tout simplement l'indice d'échanges lents et difficiles, surtout dans les cas où les deux organismes associés appartiennent à des espèces éloignées.

INOCULATION DE CULTURES MICROBIENNES A DES ANIMAUX PRÉPARÉS PAR DES ANTICORPS VÉGÉTAUX SPÉCIFIQUES.

Les expériences qui précèdent ont montré que des plantes, soumises à des inoculations répétées d'un microbe, ont élaboré des anticorps capables de modifier la virulence de ce microbe lorsqu'on les ajoute à des cultures de ce germe avant de les inoculer au cobaye.

Nous avons cherché à apporter une autre preuve à la présence de ces anticorps dans les plantes inoculées. Pour cela, nous avons fait agir les extraits de plantes préparées, non plus sur les microbes au moment de l'inoculation aux cobayes, mais sur ceux-ci, avant l'injection du microbe

d'épreuve. Nous avons, en conséquence, soumis les cobayes d'expérience à un traitement de longue durée (un mois ou un mois et demi) au cours duquel nous mêlions à leur nourriture les plantes préparées. L'animal ingérait les plantes que nous supposions contenir les anticorps. Si ces anticorps existaient, ils devaient être assimilés par l'organisme et pouvaient, au bout d'un temps de traitement assez long, s'être accumulés dans les tissus. L'animal, inoculé à ce moment avec le microbe d'épreuve, devait se comporter d'une façon différente de celle

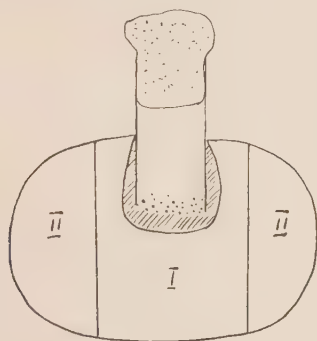


FIG. 3. — La zone hachurée, en contact immédiat avec l'inoculation de *B. Gärtner*, a été rejetée.

La zone II, trop loin de l'inoculum a également été rejetée.

La zone I seule a été conservée.

de l'animal témoin qui n'avait pas reçu de plantes préparées.

Le matériel auquel nous nous sommes adressé se composait de pommes de terre inoculées de la façon que nous avons décrite plus haut, avec des cultures de *B. Gärtner*. Une pomme de terre préparée, hachée finement, était donnée en mélange avec la nourriture ordinaire un jour sur deux. La série de cobayes témoins recevait exactement le même régime alimentaire, mais la Pomme de terre préparée était remplacée par une Pomme de terre ordinaire. A la fin de ce traitement, chaque cobaye recevait, dans la veine, une certaine quantité de culture de *B. Gärtner* (de 0 c. c. 10 à 0 c. c. 5), suffisante pour amener sa mort. Les lésions constatées à l'autopsie sont enregistrées avec soin.

Nous avons fait deux séries d'expériences dont les résultats sont résumés dans les tableaux suivants :

Durée de l'expérience :

CAS	CENT. CUBES de G. inoculé	MORT EN	LÉSIONS RELEVÉES		
			Péritoine	Intestin	Foie
Cobayes (Nourris de la ration normale)					
I'	0,1 (veine).	10 jours.			Normal.
II'	0,25 (veine).				
III'	0,25 (veine).				
IV'	0,5 (veine).	17 jours.	Congestionné.		
Cobayes (Nourris de la ration normale additionnée)					
I	0,1	1 mois.	Congestionné.		Périhépatite.
II (<i>guéri</i>) . .	0,25	3 semaines.			
III (<i>guéri</i>) . .	0,25	2 semaines.	Péritonite avec liquide.		
IV	0,5	1 semaine.		Congestion. Matières liquides dans l'in- testin.	Congestion in- tense.

(1) Le signe + indique la présence de ganglions hypertrophiés. Le poids moyen d'un cobaye est

EXPÉRIENCE N° 1. — Chaque cobaye d'expérience est nourri un jour sur deux d'une pâtée additionnée d'une Pomme de terre anti-Gärtner.

Les cobayes témoins reçoivent le même régime alimentaire, mais les Pommes de terre anti-Gärtner sont remplacées par des Pommes de terre normales.

A la fin du traitement, qui dure un mois, on inocule chaque cobaye avec une certaine quantité de culture de *B. Gärtner* de vingt-quatre heures en bouillon Liebig (0 c. c., 10 à 0 c. c., 5).

EXPÉRIENCE N° 2. — Chaque cobaye d'expérience est nourri tous les deux jours d'une pâtée additionnée d'une Pomme de terre anti-Gärtner.

Chaque cobaye témoin reçoit le même régime alimentaire, mais la Pomme de terre anti-Gärtner est remplacée par une Pomme de terre ordinaire.

A la fin de ce traitement (qui dure un mois et demi), on inocule chaque cobaye avec une certaine quantité de suspension de *B. Gärtner* (suspension dans 5 cent. cubes d'eau physiologique d'une culture de vingt-quatre heures de *B. Gärtner* sur gélose en tube incliné). Les doses employées varient de 0 c. c., 1 à 1 c. c., 5.

in mois.

A L'AUTOPSIE

Rate	Capsules surrénales	Hypertension des ganglions			
		mésentériques	lombaires	aines	aisselles
<i>témoins.</i> <i>additionnée de Pommes de terre.)</i>					
Petite.		+		++ (1)	
Petite.	Congestionnées.			++	++
<i>d'expérience.</i> <i>de Pommes de terre anti-Gärtner.)</i>					
Congestionnée, grosse.		+		++	++
Triple de volume et très conges- tionnée.		++		++	
de 400 grammes.					

L'examen des tableaux précédents indique que les symptômes pathologiques présentés par les cobayes traités par des plantes anti-Gärtner sont plus graves que ceux présentés par des cobayes qui ont été nourris de plantes normales.

Ce résultat se rapproche de celui auquel nous étions arrivé à l'issue des expériences conduites sur les plantes anti-Proteus, dont les extraits étaient inoculés au cobaye en mélange avec des cultures de *B. proteus*.

Nous avons alors constaté que l'inoculation du mélange (Proteus plus extrait de plantes préparées) est plus virulent, sauf de rares cas, que l'inoculation du mélange Proteus plus extrait de plantes normales. Tout se passait donc comme si la plante avait acquis la propriété d'augmenter la virulence de la culture de Proteus, et comme si l'hypothèse de Nicolle, relative à la présence de « lysines » prépondérantes dans la plupart des cas, était exacte.

CAS	CENT. CUBES de G. inoculé	MORT EN	LÉSIONS RELEVÉES		
			Péritoine	Intestin	
<i>Cobaye</i> Nourris de la ration normale					
I'	0,25 (veine).				
II'	0,5 (veine).	10 jours.	Congestionné.	Matières liquides dans l'intestin.	
III'	1 (veine).	6 jours.			
IV'	1,5	4 jours.	Congestionné.		Vésicule vide, foie hypertrophié.
V'	1 (péritoine).				
<i>Cobaye</i> Nourris de la ration normale additionnée					
I (guéri). . .	0,25 (veine).				
II	0,5 (veine).	9 jours.	Congestionné.	Matières liquides dans l'intestin.	Vésicule hypertrophiée.
III	1 (veine).	1 jour.	Péritonite avec liquide.	Matières liquides dans l'intestin.	
IV	1,5 (veine).	1 jour.	Péritonite avec liquide.	Matières liquides dans l'intestin.	
V	1 (péritoine).	12 jours.	Périsplénite.		

(1) Le signe + indique l'hypertrophie des ganglions. Le poids moyen des cobayes est de 400 grammes.

(1) Le signe + indique l'hypertrophie des ganglions. Le poids moyen des cobayes est de 100 grammes.

L'expérience présente donne un résultat du même ordre. Le traitement par la Pomme de terre anti-Gärtner a « sensibilisé » le cobaye à des injections postérieures de ce microbe.

L'explication du mécanisme de cette sensibilisation ne peut être qu'hypothétique. Mais l'hypothèse qui semble la plus logique est celle qui nous a guidé dans tout notre travail : le cobaye a absorbé et assimilé une certaine quantité d'anticorps élaborés par la plante. Ces anticorps seraient encore des anticorps lysants, mettant en liberté, dans l'organisme, les endotoxines microbiennes.

On pourrait, il est vrai, nous objecter que la « sensibilisation » du cobaye a été le fait de l'absorption, au cours du traitement, de quantités infinitésimales de toxines de Gärtner par l'organisme du cobaye. Ces toxines auraient provoqué des

un mois et demi.

A L'AUTOPSIE					
Rate	Capsules surrénales	Hypertrophie des ganglions			
		mésentères	lombaris	aines	aisselles
<i>témoins.</i> <i>additionnée de Pommes de terre).</i>					
Petite.	Très congestionnées.			++ (1)	
Triple de volume, congestionnée.	Congestionnées.			++	
Congestionnée, grosse.	Congestionnées.			++	
<i>d'expérience.</i> <i>de Pommes de terre anti-Gärtner).</i>					
Congestionnée.				++	+ +
	Hypertrophie, con- gestionnées.	+		++	++
	Hypertrophie, con- gestionnées.	+		++	++
	Hypertrophie.			++	

réactions d'allergie qui expliqueraient l'aggravation des symptômes observés.

Nous ne pensons pas que cette hypothèse soit acceptable. Les Pommes de terre données aux cobayes ont été soigneusement débarrassées de la zone du tubercule voisin du point d'inoculation où a été déposé le centimètre cube de culture de *B. Gärtner*, puis lavées.

La partie que l'on a administrée au cobaye ne pouvait donc contenir aucun reste de bouillon de culture, ce qui est, d'ailleurs démontré par l'absence d'agglutinines dans le sang du cobaye. Nous avons, en effet, recherché sur les cobayes traités (avant l'inoculation) la présence d'agglutinines. Les réactions ont été négatives et ne sont devenues positives qu'après l'inoculation de la culture de *B. Gärtner* dans l'orga-

nisme du cobaye. On peut, tout au plus, admettre qu'il y a eu passage d'une certaine quantité de toxines microbiennes vers l'intérieur du tubercule. Mais, dans ce cas, les toxines, dans leurs passages successifs à travers les cellules, auraient sans doute subi une série de modifications. Rien ne permet de rejeter entièrement cette hypothèse, mais celle que nous proposons, en harmonie avec les faits observés dans d'autres expériences, nous semble avoir plus de chances de se conformer à la réalité.

B. — Études des réactions
de plantes vis-à-vis de toxines bactériennes.

Étude par une méthode physiologique.
(*Inoculation à des cobayes*
de mélanges de cultures bactériennes
et d'antitoxines végétales.)

Après avoir constaté l'élaboration des anticorps par les plantes inoculées à l'aide de cultures bactériennes, ou croissant en milieux additionnés de ces cultures, nous avons recherché si la plante élabore encore des anticorps en réponse à l'inoculation de toxines bactériennes, ou à la présence de ces toxines dans le milieu où elle se développe. Dans ce but, nous avons, dans la culture bactérienne, séparé par filtration les exotoxines, et nous avons soumis les plantes en expérience à leur action dans les conditions expérimentales que nous préciserons dans les pages suivantes. On sait que l'animal réagit à l'injection d'une toxine par la formation d'une antitoxine. En est-il de même pour la plante ?

DÉTAIL DE LA TECHNIQUE. — Des bulbes d'*Allium cepa* sont mis à croître au-dessus d'un cristalliseur rempli d'eau additionnée de cultures filtrées de *B. Gärtner* (100 cent. cubes pour 1.500 cent. cubes d'eau). Ils sont soutenus par des anneaux de bois les empêchant d'être recouverts par l'eau.

Les cultures de *B. Gärtner* employées sont des cultures de quarante-huit heures filtrées sur bougie L3.

La putréfaction du milieu (eau + culture filtrée de Gärtner)

étant rapide, il est renouvelé souvent. A chaque changement, le cristallisoir, les anneaux de bois, et même, très rapidement, les bulbes, sont lavés à l'eau de Javel.

De plus, la croissance des racines d'*Allium cepa* dans un tel milieu est très mauvaise. Il s'ensuit que si on fait croître toujours les bulbes dans ces mêmes conditions, les racines avorteront complètement, et l'absorption sera réduite au minimum. Pour remédier à cet inconvénient, on fait croître les bulbes, par exemple, trois jours en eau additionnée de toxine, puis trois jours en eau distillée, trois jours en eau additionnée de toxines, etc. Dans ces conditions, les racines continuent à croître, inégalement d'ailleurs, et présentent une succession de zones allongées et renflées correspondant à des périodes de croissance normale ou retardée.

Chaque renflement correspond à l'arrêt de croissance qui se produit pendant la période où l'eau est additionnée de filtrat de culture de *B. Gärtner*.

A la récolte (après trois semaines à un mois de culture dans de telles conditions), les bulbes sont lavés à l'eau distillée et les parties étudiées (feuilles, bulbes ou racines) sont coupées, broyées au pilon sur plaques de verre dépoli, mises à macérer en eau distillée, pressées. Le produit d'extraction est centrifugé, neutralisé, filtré sur bougie Chamberland L3.

C'est sur le liquide obtenu parfaitement clair et stérile que nous avons opéré la recherche des antitoxines.

Nous avons, dans ce but, utilisé une méthode biologique consistant à inoculer à des cobayes, soit des cultures en bouillon de *B. Gärtner* seules, soit des mélanges à des taux variables de *B. Gärtner* et d'extraits de plantes préparées ou non.

L'existence d'une antitoxine doit se traduire par une neutralisation de la toxine d'épreuve (l'exotoxine contenue dans la culture en bouillon de *B. Gärtner*). Si elle se trouve dans l'extrait de plantes préparées, les symptômes présentés par les cobayes inoculés avec le mélange de *B. Gärtner* et de cet extrait seront moins graves que ceux présentés par les cobayes témoins inoculés avec le *B. Gärtner* seul, ou le *B. Gärtner* additionné d'extrait de plantes témoins.

Nous avons donc inoculé 5 séries de cobayes :

Une première série reçoit, par tête, 5 cent. cubes de l'extrait de plantes préparées ;

Une deuxième série reçoit 5 cent. cubes de l'extrait de plantes normales (ces deux séries témoins sont faites à seule fin de nous assurer du caractère inoffensif de ces extraits employés seuls) ;

Une troisième série reçoit des quantités variables (0 c. c. 25 à 0 c. c. 5) de cultures de *B. Gärtner* de vingt-quatre heures (mises à l'étuve à 37°) en bouillon Liebig. Ces cultures contiennent les corps microbiens et les exotoxines avec lesquelles nous avons préparé les pieds d'*Allium cepa* en expérience.

Une quatrième série témoin est inoculée avec des mélanges de cultures de *B. Gärtner* et d'extraits de plantes normales (0 c. c. 25 à 0 c. c. 5 de *B. Gärtner* en bouillon ; 0 c. c. 5 ou 5 cent. cubes d'extraits de plantes) ;

Une cinquième série, la série d'épreuve, est inoculée avec des mélanges de *B. Gärtner* et d'extraits de plantes préparées (dans les mêmes proportions que dans la série précédente).

RÉSULTATS DE L'EXPÉRIENCE. — Il nous est difficile de présenter, dans un résumé concis, le résultat de nos expériences.

Tous nos cobayes sont morts, en effet, dans des délais de six à sept jours, les témoins aussi bien que les animaux inoculés avec le mélange : microbe + extrait de plantes traitées.

Les lésions constatées à l'autopsie ont été, cependant, fort variables et toujours beaucoup moins étendues et moins considérables chez les cobayes d'expérience que chez les témoins.

Il semble que cet état de choses traduit une action réelle, mais incomplète d'une antitoxine, présente dans l'extrait d'oignon traité, sur la toxine injectée en même temps que lui. Cette action serait insuffisante pour protéger le cobaye, suffisante cependant pour limiter le développement des lésions organiques.

Nous avons, dans ces conditions, pensé pouvoir schématiser notre expérience de la façon suivante :

Nous avons attribué à chaque autopsie une valeur numérique obtenue en donnant une note à chaque lésion constatée :

la diarrhée seule aura, par exemple, la note 1, la diarrhée hémorragique, la note 2, etc.

Système de notation adopté :

Ganglion normal	0
Ganglion légèrement hypertrophié	1
Ganglion très hypertrophié	2
Ganglion très hypertrophié et congestionné	3
Ganglion, hypertrophie et congestion considérables	4
Diarrhée	1
Diarrhée hémorragique	2
Vésicule biliaire rétractée, à parois épaisses	2
Vésicule biliaire d'aspect normal	0
Péritonite	3
Rate, selon l'hypertrophie et la congestion	1 à 3
Plaques de Peyer hypertrophiées	2

Dans ces conditions, les cobayes sur lesquels nous avons expérimenté ont obtenu, à l'autopsie, les notes suivantes :

Sujets témoins ayant reçu des inoculations de *B. Gärtner*.

<i>Durée de survie :</i>	<i>Dose inoculée :</i>
Cobaye mort en sept jours.	0 c.c. 25 de <i>B. Gärtner</i> .

<i>Résultats de l'autopsie :</i>		NOTE
Ganglions inguinaux	légèrement hypertrophiés	1
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	hypertrophiés	2
Péritoine	congestionné, liquide	3
Rate	hypertrophiée, congestionnée	3
Capsules surrénales	hypertrophiées, hémorragiques	3
Intestin	diarrhée	1
Plaques de Peyer	hypertrophiées	2
Vésicule biliaire	vide, parois épaisses, rétractées	2
Poumons	normaux	0
		17

Sujets témoins ayant reçu des inoculations de B. Gärtner.

Durée de survie :

Dose inoculée :

Cobaye mort en cinq jours.

0 c.c. 3 de B. Gärtner.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

Ganglions inguinaux	hypertrophiés	2
Ganglions axillaires	hypertrophiés	2
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	hypertrophiés, hémorragiques	3
Péritoine	un peu de liquide	1
Rate	hypertrophiée, congestionnée	3
Capsules surrénales	normales	0
Intestin	normal	0
Plaques de Peyer	hypertrophiées	2
Foie	gras	0
Vésicule biliaire	normale	0
Poumons	pleurésie	1
		11

Sujets témoins ayant reçu des inoculations de B. Gärtner.

Durée de survie :

Dose inoculée :

Cobaye mort en six jours.

0 c.c. 25 de B. Gärtner.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

Ganglions inguinaux	légèrement hypertrophiés	1
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	très hypertrophiés, congestionnés	4
Péritoine	congestion, liquide	3
Rate	hypertrophiée	2
Capsules surrénales	hypertrophiées, mais pas hémorragiques	2
Intestin	diarrhée hémorragique	2
Plaques de Peyer	normales	0
Vésicule biliaire	vide, à parois épaisses, rétractées	2
Poumons	normaux	0
		16

**Sujets témoins ayant reçu des inoculations de mélange
de culture de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* non traité.**

Durée de survie :

Dose inoculée :

Cobaye mort en quatre jours.

0 c. c. 5 de *B. Gärtner* + 0 c. c. 5 d'extrait
d'*Allium cepa* non traité.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

		NOTE
Ganglions inguinaux	congestionnés	3
Ganglions axillaires	congestionnés	3
Ganglions mésentériques	hypertrophiés, congestionnés . .	3
Ganglions lombaires	normaux	0
Péritoine	congestionné	1
Rate	très congestionnée	2
Capsules surrénales	congestionnés	3
Intestin	normal	0
Plaques de Peyer	hypertrophiées, congestionnées .	2
Vésicule biliaire	rétractée, à parois épaisses . .	2
Poumons	congestionnés, un peu de pleu- résie	1
		20

**Sujets témoins ayant reçu des inoculations de mélanges
de culture de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* non traité.**

Durée de survie :

Dose inoculée :

Cobaye mort en trois jours.

0 c. c. 5 de *B. Gärtner* + 5 cent. cubes
d'extrait d'*Allium cepa* normal.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

		NOTE
Ganglions inguinaux	hémorragiques (deux côtés) . .	3
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	hypertrophiés, hémorragiques .	3
Péritoine	un peu congestionné	1
Rate	hypertrophiée, congestionnée . .	3
Capsules surrénales	normales	0
Intestin	diarrhée	1
Plaques de Peyer	hémorragiques	2
Vésicule biliaire	normale	0
Poumons	normaux	0
		13

**Sujets témoins ayant reçu des inoculations de mélanges
de culture de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* non traité.**

Durée de survie :

Dose inoculée :

Cobaye mort en sept jours. 0 c.c. 25 de *B. Gärtner* + 0 c.c. 5
d'extrait d'*Allium cepa* normal.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

Ganglions inguinaux	dans les deux aines congestionnés.	2
Ganglions axillaires	dans les deux aisselles.	2
Ganglions lombaires		
Ganglions mésentériques	hypertrophiés	2
Péritoine.	normal.	0
Rate	hypertrophiée, congestionnée	3
Capsules surrénales	hypertrophiées.	2
Intestin	normal.	0
Plaques de Peyer.	hypertrophiées.	2
Vésicule biliaire	vide, à parois épaisses rétractées	2
Poumons.	normaux.	0
		15

**Sujets d'expérience ayant reçu des inoculations de mélanges
de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* préparé.**

Durée de survie :

Mélange inoculé :

Cobaye mort en quatre jours. 0 c.c. 5 de *B. Gärtner* + 5 cent. cubes
d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

Ganglions inguinaux	hémorragiques, pas très gros	3
Ganglions axillaires	légèrement hypertrophiés	1
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	légèrement hypertrophiés	1
Péritoine.	normal.	0
Rate	hypertrophiée, congestionnée	3
Capsules surrénales	normales	0
Intestin	normal	0
Plaques de Peyer.	normales	0
Vésicule biliaire	normale.	0
Poumons.	normaux	0
		8

Sujets d'expérience ayant reçu des inoculations de mélanges de culture de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

Durée de survie :

Mélange inoculé :

Cobaye mort en six jours.

0 c. c. 5 de *B. Gärtner* + 0 c. c. 5 d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

<i>Résultats de l'autopsie :</i>		NOTE
Ganglions inguinaux	normaux	0
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	normaux	0
Péritoine		
Rate	légère hypertrophie	1
Capsules surrénales	normales	0
Intestin	un peu de diarrhée	1
Plaques de Peyer	normales	0
Vésicule biliaire	normale	0
Poumons	normaux	0
		2

Sujets d'expérience ayant reçu des inoculations de mélanges de culture de *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

Durée de survie :

Mélange inoculé

Cobaye mort en sept jours.

0 c. c. 25 de *B. Gärtner* + 5 cent. cubes d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

<i>Résultats de l'autopsie :</i>		NOTE
Ganglions inguinaux	normaux	0
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	normaux	0
Ganglions mésentériques	légèrement hypertrophiés	1
Péritoine	normal	0
Rate	congestionnée	2
Capsules surrénales	normales	0
Intestin	normal	0
Plaques de Peyer	normales	0
Vésicule biliaire	normale	0
Poumons	normaux	0
		3

Sujet d'expérience ayant reçu des inoculations de mélanges de culture *B. Gärtner* et d'extrait d'*Allium cepa* préparée.

Durée de survie :

Mélange inoculé :

Cobaye mort en six jours.

0 c.c. 25 de *B. Gärtner* + 0 c.c. 5 d'extrait d'*Allium cepa* préparé.

Résultats de l'autopsie :

NOTE

Ganglions inguinaux	normaux	0
Ganglions axillaires	normaux	0
Ganglions lombaires	légèrement hypertrophiés . . .	1
Ganglions mésentériques	normaux	0
Péritoine	normal	0
Rate	légèrement hypertrophiée, congestionnée	2
Capsules surrénales	hypertrophiées, hémorragiques .	3
Intestin	lésions hémorragiques	2
Plaques de Peyer	nombreuses, hypertrophiées . .	2
Vésicule biliaire	normale	0
Poumons	normaux	0
		10

**Pouvoir protecteur de la plante antitoxine-Gärtner
(exprimé par un indice numérique).**

COBAYES TÉMOINS			COBAYES D'EXPÉRIENCE	
Cobayes inoculés avec des extraits		Cobayes inoculés avec <i>B. Gärtner</i>	Cobayes inoculés avec le mélange culture <i>B. Gärtner</i> + extrait de plantes normales	Cobayes inoculés avec le mélange culture <i>B. Gärtner</i> + extrait de plantes préparées
de plantes normales	de plantes préparées			
5 c.c. : 0.	5 c.c. : 0.	0 c.c. 25 G. : 16.	0 c.c. 25 G. + 0 c.c. 5 extrait : 15.	0 c.c. 25 G. + 0 c.c. 5 extrait : 10.
5 c.c. : 0.	5 c.c. : 0.	0 c.c. 25 G. : 17.		0 c.c. 25 G. + 5 c.c. extrait : 3.
5 c.c. : 0.	5 c.c. : 0.	0 c.c. 5 G. : 14.	0 c.c. 5 G. + 0 c.c. 5 extrait : 20.	0 c.c. 5 G. + 0 c.c. 5 extrait : 1.
5 c.c. : 0.	5 c.c. : 0.		0 c.c. 5 G. + 5 c.c. extrait : 13.	0 c.c. 5 G. + 5 c.c. extrait : 8.

Les symptômes pathologiques présentés par les cobayes après inoculation de *B. Gärtner* et exprimés par les indices numériques que nous avons calculés de la façon indiquée plus

haut, sont atténués si l'on inocule, en mélange avec les cultures bactériennes, l'extrait de plantes traitées. L'extrait de plantes normales ne possède pas cette propriété protectrice.

Les plantes croissant en milieux additionnés de toxines bactériennes élaborent donc des substances qui ont un rôle protecteur quand on les inocule en même temps que la toxine à des animaux de laboratoire : elles fabriquent des antitoxines.

C. — Étude des réactions de la plante à des inoculations d'ovalbumines.

Recherche des anticorps élaborés par les plantes sous l'action d'une albumine étrangère.

On connaît, en biologie animale les réactions d'anticorps consécutives aux inoculations d'albumines. Les expériences suivantes démontrent que les mêmes phénomènes se passent chez les végétaux et que dans l'extrait d'une plante préparée par l'inoculation d'albumine d'œuf, on peut mettre en évidence l'existence de précipitines pour l'ovalbumine.

PRÉPARATION DU MATÉRIEL. — Nous nous sommes adressés à l'*Allium cepa*, que nous avons mis à croître au-dessus de verres remplis d'eau distillée additionnée de blanc d'œuf battu avec deux fois son volume d'eau (15 cent. cubes d'eau distillée pour 15 cent. cubes de blanc d'œuf dilué au 1/3). On ajoute une goutte de formol à 40 p. 100 dans chaque verre pour éviter la putréfaction.

Une série témoin d'*Allium cepa* est mise à croître en eau distillée additionnée également d'une goutte de formol.

C'est de cette façon que nous avons résolu le problème de l'inoculation d'une albumine étrangère à une plante. L'expérience nous avait, en effet, montré précédemment qu'une plante était capable d'élaborer un anticorps sous l'action d'un antigène abondant dans le milieu où elle croît. Nous avions, par contre, obtenu des résultats nuls si nous essayions d'introduire, par traumatisme (dans la feuille d'*Allium cepa* ou dans la tige de *Vicia Faba*) des solutions d'ovalbumine. On se souvient que Kostoff et Silberschmidt ont résolu la difficulté d'une autre façon, en considérant que les albumines étrangères du greffon constituaient pour le porte-greffet un véritable antigène susceptible de provoquer la formation d'anticorps. Cette dernière technique nous ayant semblé trop aléatoire, nous nous sommes adressés à celle que nous décrivons ici.

EXPÉRIENCE DE PRÉCIPITATION. — *Antigène* : blanc d'œuf dilué au 1/3 en eau distillée.

Anticorps : Extrait d'*Allium cepa* total, obtenu par broyage de la plante entière (sauf les bulbes), suivi de macération en eau distillée (technique 1, p. 41) ; filtration sur bougie Chamberland L3.

On ajoute à l'antigène quelques gouttes de l'extrait des plantes mises en expérience. Nous avons opéré la réaction aux dilutions suivantes :

XVI gouttes de dilution de blanc d'œuf, IV gouttes d'extrait de plantes.	1/5
XVIII gouttes de dilution de blanc d'œuf, II gouttes d'extrait de plantes.	1/10
XIX gouttes de dilution de blanc d'œuf, I goutte d'extrait de plantes	1/20
XVIII gouttes de dilution de blanc d'œuf, II gouttes d'extrait de plantes dilué au 1/3	1/30

Résultats de l'expérience :

DILUTIONS DES EXTRAITS	1/5	1/10	1/20	1/30
Réaction faite avec les extraits de plantes témoins	—	—	—	—
Réaction faite avec les extraits de plantes préparées	++	+	+	—

Le résultat de cette expérience montre l'apparition, dans le suc de la plante croissant en milieu additionné de blanc d'œuf, de substances capables de précipiter l'ovalbumine en solution.

D. — Mise en œuvre des anticorps élaborés par la plante.

1° Altération d'un germe au cours d'un séjour dans les tissus végétaux; 2° Défense des épidermes végétaux.

MODIFICATION DES PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES D'UN GERME AU COURS DE SON SÉJOUR DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX.

Nous avons été amené, au cours de notre étude, à envisager comme probable, une action de la plante sur l'antigène microbien qu'on lui injecte. Nous avons cherché à préciser la

nature de cette action dans les expériences suivantes. Elles ont eu pour but de chercher à mettre en évidence les modifications des propriétés physiques et biologiques des microbes qui ont séjourné un certain temps dans la plante. Nous avons, dans ce but, isolé des germes microbiens d'une plante à laquelle ils avaient été inoculés quelque temps auparavant et étudié les différentes caractéristiques de ces germes.

Dans le cas de *B. Gärtner* (que nous avons injecté à *Solanum tuberosum* et à *Vicia faba*), l'isolement a toujours été très facile. Quelques germes saprophytes existant à la surface de la plante ou dans l'eau d'arrosage peuvent pénétrer parfois dans les plaies d'inoculation et se développer à côté du germe inoculé, mais ils sont peu nombreux.

Les souches de *B. Gärtner* isolées ont présenté à peu de chose près, en culture, les mêmes caractères que la souche que nous avons inoculée à la plante. Elles produisaient seulement parfois une acidification plus rapide du milieu de Barsiekow glucosé. Leur virulence a, au contraire, été considérablement modifiée. Ceci ressort des expériences suivantes :

Nous avons opéré trois séries d'inoculation avec les souches de *B. Gärtner* ayant subi ou non un séjour dans les tissus végétaux :

Série I. — Inoculation dans la veine, de quatre cobayes, avec les souches ci-dessous :

Souche I : *B. Gärtner* entretenu sur gélose au bouillon Liebig.

Souche *a, b, c*, isolées de tubercules de *Solanum tuberosum* dans lesquels elles ont séjourné deux mois.

Le cobaye inoculé avec la souche I meurt après sept jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *a* meurt après huit jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *b* meurt après huit jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *c* meurt après quinze jours.

Série II. — Inoculation de quatre cobayes dans le péritoine avec les souches employées dans l'expérience précédente :

Le cobaye inoculé avec la souche I meurt après douze jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *a* ne meurt pas.

Le cobaye inoculé avec la souche *b* ne meurt pas.

Le cobaye inoculé avec la souche *c* meurt après trois semaines.

Série III. — Inoculation de quatre cobayes dans le péritoine avec les souches suivantes :

Souche I : *B. Gärtner* entretenu sur gélose au bouillon Liebig.

Souches *a*, *b*, *c*, isolées de *Vicia faba* dans lequel elles ont séjourné seulement dix jours.

Le cobaye inoculé avec la souche I meurt en dix-sept jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *a* meurt en dix-sept jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *b* meurt en dix-sept jours.

Le cobaye inoculé avec la souche *c* ne meurt pas.

Les résultats précédents indiquent que certaines souches de *B. Gärtner*, isolées de plantes vivantes dans lesquelles elles ont séjourné, ont perdu de leur virulence (souche *a* et *b* des deux premières séries d'expériences, souche *c* de la troisième série).

La diminution de virulence s'observe mieux dans la deuxième série d'expériences que dans la première : c'est que l'inoculation dans une veine amène, en général, dans un délai très court, des troubles plus importants que ceux observés à la suite d'injections intrapéritonéales, et les différences de virulence des souches apparaissent de façon moins sensible.

Dans la troisième série, le germe a séjourné trop peu de temps dans les tissus de la plante pour qu'une grande différence puisse s'observer entre la virulence de la souche type et celle de la souche isolée.

Nous rapportons cette expérience (qui nous a été suggérée par des travaux analogues de Hans Much) pour montrer l'action que peut exercer une plante sur un germe microbien qui ne lui est pas pathogène. Nous ignorons s'il s'agit là d'une résistance passive (milieu de croissance défavorable, principe antiseptique) ou active (sécrétion d'anticorps contre le germe bactérien). Il semble cependant que la plante réponde à l'agression d'un microbe, même avant la formation d'anticorps, et exerce sur celui-ci une action au moment du premier contact. C'est sans doute une action de même nature qui s'exerce sur le microbe saprophyte déposé à la surface d'un épiderme végétal dont nous allons voir la pauvreté constante en germes microbiens.

DÉFENSE DES ÉPIDERMES VÉGÉTAUX.

Nous ajouterons aux expériences citées précédemment les observations suivantes qui sont intéressantes parce qu'elles se rapprochent d'observations analogues faites en pathologie animale. Il s'agit de la défense spontanée des épidermes végétaux qui semble se faire de façon aussi active que celle des épidermes animaux.

L'origine de cette observation remonte à un essai que nous avons fait, de cultiver quelques espèces microbiennes saprophytes communément rencontrées sur les végétaux. Nous nous étions adressé pour isoler ces souches, à des branches d'Aucuba croissant dans le jardin de l'Institut Pasteur de Lille, donc exposées à toutes les fumées et poussières d'une ville industrielle. Nous nous attendions à une récolte abondante de bactéries.

Or, le nombre de germes vivants existant à la surface des rameaux était remarquablement peu élevé. En fait, la plupart des tubes de gélose au bouillon de Liebig ensemencés avec un fil de platine promené à la surface des rameaux, restaient stériles. On obtenait de temps en temps le développement d'une moisissure, plus rarement, celui d'une colonie bactérienne.

Si, de même, on plongeait tel quel un fragment de branche verte d'aucuba dans un tube de bouillon Liebig, le bouillon ne se troublait pas, ou seulement après plusieurs jours de séjour à l'étuve à 37°. La plupart du temps, d'ailleurs, les seuls organismes qui se développaient étaient des champignons, peut-être parasites, qui semblaient croître à partir des tissus intérieurs de la tige.

La surface des jeunes branches d'aucubas était pratiquement stérile. Cette constatation nous surprit. La première explication qui nous vint à l'esprit fut celle de l'existence d'un antiseptique dans les tissus végétaux de l'aucuba. Mais la même expérience répétée avec des branchettes jeunes d'un autre arbuste croissant à côté, donnèrent des résultats identiques. L'antiseptique, s'il existait, n'était donc pas spécial à l'aucuba.

Pour savoir s'il s'agissait d'un antiseptique, nous avons étudié l'effet de fragments de branches vertes d'aucubas, ou d'extraits de la même plante, sur des bouillons ensemencés avec des cultures bactériennes. Nous n'avons observé aucune modification dans le développement de la bactérie, si ce n'est parfois, un léger retard.

Aucune action, ni antiseptique, ni empêchante, ne semblait s'être manifestée au cours de notre expérience.

Nous avons, de plus, remarqué que si l'on faisait avec l'anse de platine, des prélèvements sur des tissus morts de l'arbuste, le nombre des germes vivants présents sur les tissus de liège était beaucoup plus élevé que dans le cas du prélèvement fait sur des tissus jeunes.

Nous basant sur ces constatations, nous avons fait l'expérience suivante :

Plante d'expérience : la Pomme de terre.

Nous nous sommes assuré que le même phénomène existait dans le cas d'un tubercule de Pomme de terre.

Un tubercule de Pomme de terre (tubercule jeune de l'année) est lavé, puis abandonné sur une table du laboratoire pendant plusieurs jours. Au bout de quatre à six jours, on prend le tubercule, on l'immerge dans de l'eau stérile (quantité juste suffisante pour le recouvrir). On compte en boîte de Pétri, le nombre de germes bactériens contenus dans chaque centimètre cube d'eau de lavage.

Ce nombre est toujours minime : entre 20 et 100 par exemple.

Nous avons opéré de même la numération des germes bactériens à la surface de la Pomme de terre soumise à divers traitements. Voici les résultats :

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — *Tubercule de Pomme de terre lavé non pelé* : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : 40 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Tubercule de Pomme de terre lavé pelé : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : 33 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Tubercule de Pomme de terre cuit non pelé (sans qu'il ait été défait par la cuisson) : Après vingt-quatre heures de

séjour au laboratoire : 400 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Tubercule de Pomme de terre cuit pelé : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : au moins 80.000 germes.

Tubercule de Pomme de terre haché (après avoir été pelé) : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : environ 80.000 germes.

Pelure de tubercule de Pomme de terre hachée : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : environ 100.000 germes.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — *Tubercule de Pomme de terre épluché à deux reprises* : (en enlevant, une première fois, l'épiderme, puis ensuite 0 cent. 5 d'épaisseur de tissus de réserve).

Au moment de l'épluchage : 800 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire : 1.000 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Pelure extérieure de la Pomme de terre (épiderme) : Au moment de l'épluchage, 1.000 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Après vingt-quatre de séjour au laboratoire : 64.000 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

Pelure intérieure de la Pomme de terre : Après vingt-quatre heures de séjour au laboratoire, 5.000 germes au centimètre cube d'eau de lavage.

TROISIÈME EXPÉRIENCE. — On prend une Pomme de terre que l'on coupe en tranches minces (0 cent. 5).

Tranche I : laissée crue, exposée vingt-quatre heures à l'air du laboratoire. Après vingt-quatre heures : nombre de germes au centimètre cube d'eau de lavage : 4.000 germes.

Tranche II : cuite (sans qu'elle se défasse) puis laissée au laboratoire. Après vingt-quatre heures : 12.000 germes.

Tranche III : frappée fortement plusieurs fois au pilon. Après vingt-quatre heures : 80.000 germes.

QUATRIÈME EXPÉRIENCE. — On prend un Oignon cru, épluché et lavé. On le plonge dans une dilution de *B. proteus* dans l'eau salée (60.000 germes par centimètre cube).

On plonge dans la même dilution, un Oignon cuit (sans qu'il se délasse, mais les cellules de la tunique extérieure sont tuées). On fait la numération des germes à la surface de ces deux Oignons après dix jours de séjour au laboratoire :

Oignon cru : Nombre de germes de *B. proteus* au centimètre cube d'eau de lavage : 1.200 germes.

Oignon cuit : Nombre de germes au centimètre cube d'eau de lavage : plus de 100.000.

De ces observations, se dégagent les conclusions suivantes :

La surface épidermique des tissus végétaux vivants héberge généralement peu de germes bactériens vivants, alors que les tissus ou matériaux morts qui les entourent en sont recouverts abondamment.

Il s'agit là d'un phénomène de défense de la plante vivante. Si, en effet, pour une raison quelconque, les cellules superficielles sont tuées (par la chaleur, par exemple), le nombre de germes bactériens augmente. Si la vitalité est diminuée (coups répétés portés sur la plante qui, pourtant, n'ont pas tué les cellules), le nombre de germes augmente également. C'est le cas de la pomme qui pourrit si elle reçoit un choc.

Certains tissus de vitalité moins grande que d'autres (les tissus constitués de liège, l'épiderme du tubercule de Pomme de terre, par exemple) se laissent plus rapidement recouvrir de germes étrangers que les tissus constitués de cellules à protoplasme plus abondant (tissus de réserve de l'intérieur du tubercule de Pomme de terre). Cette défense semble donc s'exercer en proportion de la vitalité du tissu qui l'exerce.

Ce n'est pas un simple manque de nourriture qui fait que les germes sont peu abondants sur les tissus vivants. Ils sont, en effet, plus abondants sur des objets inertes à côté des plantes vivantes, plus abondants sur des tissus de liège que sur des tissus en croissance.

Nous ne pouvons pas déterminer la nature de ce mode de défense. Mais il est intéressant de noter qu'il existe de façon exactement semblable chez les animaux. Il est facile de se rendre compte qu'un épiderme quelconque exposé à l'air libre, celui de la main par exemple, après simple lavage à l'eau bouillie est très pauvre en germes.

L'épiderme, dans le cas de la plante, comme dans le cas de

l'animal, n'est pas une simple barrière passive. Chaque cellule de cet épiderme est active et oppose une défense à tout germe qui tombe à sa surface, non pas seulement du fait qu'elle possède un revêtement cuticulaire plus abondant que les autres cellulés de l'organisme, mais parce qu'elle possède un protoplasme vivant.

CONCLUSIONS

Depuis 1932, époque à laquelle nous avons commencé ce travail, un grand nombre de publications ont paru sur le sujet, publications contradictoires qui indiquent la complexité du problème. Nous apportons quelques résultats positifs et des techniques originales qui pourraient être utilisées plus largement dans des travaux futurs. Les résultats positifs de quelques expériences nous permettent, non pas de répondre à toutes les questions que soulève notre sujet, mais d'élaborer le plan d'un travail futur auquel ces expériences serviront de base. Chacune d'elles est en réalité le début d'un chapitre encore inexploré.

Pour notre travail, nous nous sommes placé dans des conditions évidemment artificielles : les plantes ont été inoculées avec des bactéries qui, dans les conditions ordinaires ne leur sont pas pathogènes. Mais nous avons pensé qu'un germe n'avait pas besoin d'être pathogène pour une plante, pour que celle-ci réagisse à son action : « Dans l'immunité type, écrit Maurice Nicolle, la destruction s'opère silencieusement », mais la réaction existe néanmoins. Et « la virulence du microbe, c'est son immunité vis-à-vis de l'organisme, comme l'immunité de ce dernier, c'est sa virulence vis-à-vis du microbe ». L'expérience nous a prouvé qu'en effet, les réactions d'immunité se développaient contre des germes vis-à-vis desquels la plante est immune. Après avoir constaté qu'effectivement les plantes présentaient des réactions humorales dans les conditions de croissance et d'infection que nous avons fixées, nous avons continué à travailler dans la même voie et avec le même

matériel. Nous n'avons pas encore pu aborder, ou seulement très peu, l'étude de cas naturels d'immunité.

Les seules expériences que nous présentons ici ne nous permettent pas de tirer des conclusions générales quant au mécanisme de l'immunité chez les végétaux. Elles sont cependant suffisantes pour nous donner une idée des changements qui apparaissent dans les « humeurs » de la plante et accompagnent les réactions d'immunité. Nous avons vu que l'extrait cellulaire (tel que nous l'obtenons par broyage ou macération des organes végétaux) n'a pas des propriétés identiques quand il provient d'une plante infectée et quand il a été prélevé sur une plante saine. Couleur, densité, stabilité, acidité, etc..., sont différentes d'un extrait à un autre. En utilisant des techniques délicates, nous pourrions mettre en lumière l'influence qu'ils exercent sur les germes inoculés aux plantes dont ils proviennent et obtenir ainsi des indications sur le rôle, dans le mécanisme de l'immunité, des propriétés acquises par ces extraits végétaux. C'est ce que nous avons essayé de faire en employant les techniques utilisées en sérologie humaine (agglutination, précipitation, déviation du complément, etc...) ou en étudiant les propriétés biologiques de nos extraits par inoculation à des animaux de laboratoire. Nous avons obtenu aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, des résultats qui, en dépit d'une certaine inconstance, nous ont apporté des certitudes.

Cette irrégularité apparente des phénomènes ne doit pas nous surprendre. Il serait, en réalité, étonnant qu'il en fût autrement. Tout nous est inconnu dans ce domaine des réactions d'immunité chez la plante : l'ampleur des phénomènes de résistance cellulaire autour du point d'inoculation, la rapidité de leur apparition, leur persistance, l'importance du mode d'administration des antigènes (Maurice Nicolle insiste, en sérologie animale, sur l'importance de ce dernier point quant à la prédominance des phénomènes de lyse ou de coagulation), le meilleur moyen d'extraction du suc cellulaire contenant les anticorps (ceux-ci sont-ils en solution dans le suc vacuolaire ou fixés sur quelque colloïde du protoplasme), leur stabilité, etc...

De plus, les techniques sérologiques telles qu'on les emploie en pathologie animale sont encore bien imparfaites. Elles ne

permettent de saisir le phénomène que de façon empirique. On perçoit les effets des substances nouvelles apparues dans le suc cellulaire : on ne connaît ni leur nature, ni leur origine. Nous les avons nommées des « anticorps », employant le terme consacré en biologie animale. Tout se passe comme s'ils comprenaient deux groupes : les anticorps agglutinants ou coagulants, et les anticorps lysants, tout comme ceux que les pathologistes connaissent en médecine humaine. La première catégorie serait responsable des phénomènes d'agglutination observés *in vitro*, la seconde, de nombreux phénomènes d'activation, de virulence mis en évidence par inoculation sur les cobayes. Mais nous ne savons rien de la nature de ces substances : s'il n'en existe qu'une possédant cette pluralité de propriétés ou s'il y en a plusieurs, chacune possédant une propriété propre. On ne sait même pas si elles constituent véritablement des armes de défense de l'organisme végétal ou si « ces substances ou ces propriétés des sérums ne constituent, dans bien des cas, que des *témoins* de l'immunité ».

Il se peut même que la cellule végétale, lorsqu'elle opère la destruction du germe qui l'a envahie, agit bien par coagulation suivie de lyse (c'est en fait ce que montre la morphologie : les pelotons de rhizoctonia subissent dans la cellule d'orchidée une véritable agglutination, selon l'expression de Noël Bernard ; et les filaments des champignons endophytes subissent une protéolyse lorsque les cellules corticales s'affranchissent de la symbiose). Mais rien ne démontre que ce soient ces mêmes substances que nous décelons *in vitro*.

Il est vrai que le même doute existe en sérologie et nous avons bien le droit de rapprocher les deux groupes de phénomènes : propriétés acquises des sérums animaux et propriétés acquises des extraits de végétaux infectés. Notre travail nous a toujours amené à un rapprochement entre les comportements de la cellule végétale et ceux de la cellule animale.

Ce qui caractérise la plante : son squelette de cellulose, sa nutrition purement minérale, l'indépendance relative de chacun de ses membres, semble, à première vue, la différencier tellement de l'animal qu'on a peine à comprendre que ses réactions devant un parasite ressemblent à celles de l'animal.

Mais le squelette de cellulose ne protège pas la plante contre

les attaques des champignons capables de sécréter des enzymes lysant la cellulose ; chaque partie de la plante est relativement indépendante d'une autre ; il s'ensuivra que sa réaction pourra être plus localisée, intéresser une partie plus restreinte de l'organisme ; ainsi, dans le règne végétal, comme dans le règne animal, la réaction d'immunité sera, en dernière analyse, une réaction cellulaire. Rien d'étonnant à ce que l'on puisse trouver un caractère commun à quelques-unes de ces réactions.

BIBLIOGRAPHIE

- ALMON et STOVALL, Serological reactions of cultures of *Monilia* and of some other yeast like fungi. *Journ. of inf. Dis.*, **55**, 1, 1934, p. 12-25.
- ANGELL (H.-R.) et WALKER (J.-C.), LINK (Karl-Paul), The relation of protocatechic acid to disease resistance in the onion. *Phytopathology*, **20**, 1930, p. 431-438.
- ARATA (Maria), Sul meccanismo dell' immunità acquisita nei vegetali. *Tesi di laurea*, Milano Luglio, 1934.
- ARNAUDI (C.), Sopra uno pseudo-ambocetore emolitico del gelso. *Boll. Ist. sieroterap. Milanese*, **4**, 1925, p. 343-351.
- ARNAUDI (C.), Sull immunità acquisita nei vegetali. *Atti. Soc. Ital. Sc. nat.*, Milano, **64**, 1925, p. 230-238.
- ARNAUDI (C.), Nuove esperienze sulla vaccinazione delle piante. *Riv. Pathol. Veg.*, **18**, 1927, p. 161-168.
- ARNAUDI (C.), A propos de quelques expériences sur l'immunité acquise des végétaux. *Rev. Path. vég. et Entom. agr.*, **14**, 1932, p. 103-112.
- BALDACCII (E.), Studi sulla fito immunità acquisita attiva. *Boll. d. R. Ist. Sup. Agr. di Pisa*, **8**, 1932.
- BALDACCII (E.), L'immunità acquisita attive nelle piante superiore. I. Esperienze di vaccinazione. — II. Ricerche sulla vaccinazione e sui liquidi usati come vaccini. — III. Critica del concetto di vaccinazione e dei procedimenti tecnici. *Boll. Soc. Ital. Biol. sper.*, **8**, IX, 1934, p. 744-746 ; X, p. 1232-1235.
- BALDACCII (E.), Ricerche intorno alla cosiddetta vaccinazione nelle piante. *Atti. Ist. bot. Univ. Pavia*, **7**, série IV.
- BEAUVIERE (J.), La résistance plastidaire et mitochondriale et le parasitisme. *C. R. Ac. Sc.*, **172**, p. 1192-1195.
- BEAUVIERE (J.), Action du parasite sur la résistance du chondriome-plastidome, sa fragilisation et l'altération de la structure cellulaire. *Proc. of the International Congress of Plant. Sciences* **2**, 1929.
- BENIGNI (E.), Note sull' *Ustilago Maydis* D. C. Corda nella valle Padava. *Riv. di Patol. Veg.*, **17**, p. 57-72.

- BERNARD (Claude), *Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux*. Paris, Baillière, 1879.
- BERNARD (Noël), Sur la fonction fongicide des bulbes d'Ophrydées : les mycoshizes des Solanum. *Ann. Sc. nat. Botanique*, 1911, p. 221-258 ; *Bull. Inst. Pasteur*, 1912, p. 69.
- BERNARD (Noël), *Annales des Sc. nat. Bot.*, 9, 1919, Série 9.
- BERRIDGE (E.-M.), Studies in bacteriosis XVI : The agglutinating and plasmolytic action of the sap of the potato on avirous parasites and saprophytic species of bacteria. *Annals of appl. Biol.*, 16, 1929, p. 567-577.
- BLACKMAN, Discussion on some similarities and dissimilarities between plants and animal diseases. *British med. Journal*, p. 21-22.
- BOIVIN (A.), MARBE (M.), MESSOBEAUX (Mme L.), JUSTER (P.), Sur l'existence dans le *B. tumefaciens* d'une endotoxine capable de provoquer la formation de tumeurs chez les végétaux, *C. R. Acad. Sciences*, 201, nov. 1934, p. 984.
- BOLLEY (H.-L.), Observations regarding the constancy of mutants and questions regarding the origin of disease resistance in plant. *Amer. nat.*, 42, 1908, p. 171-183.
- BORDET (J.), Immunité, antigènes, anticorps, in *Traité de physiologie normale et pathologique*, de Ch. Roger. Masson, Paris.
- BRIERLEY (W.-B.), On a case of recovery from mosaic disease of tomato. *Ann. of Appl. Biol.*, 2, 1915-1916, p. 263-266.
- CALDWELL (J.), On the interactions of plant virus ; experiments on induced immunity in plants. *Proc. Royal Soc.*, Londres, 117, série B., mars 1935, p. 120-139.
- CALMETTE, BOQUET et NÈGRE, Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson et C^{ie}, Paris 1933.
- CAPPELLETTI (C.), Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali delle leguminose. *Atti. Soc. Medico Chim. di Padova*, 1923 a, 5-9, F. M.
- CAPPELLETTI (C.), Reazioni immunitarie nei tubercoli radicali delle leguminose. *Giornale di Biol. e Medicina*, 1, 1923, p. 177-180 ; *Annali di Botanica*, 16, fasc. 2, 1924, p. 171-186.
- CAPPELLETTI (C.), La forma batteroide e l'immunità nelle leguminose. *Rendiconti della R. Ac. naz. dei Lincei* (fisiche matem. etc.). 4, série IV, décembre 1926, série VI, 4 (II), p. 533-537.
- CAPPELLETTI (C.), I tubercoli radicali delle leguminose considerati nei loro rapporti immunitarie morfologici. *Annali di Botanica*, 17, fasc. 5, 1928, p. 211-297.
- CAPPELLETTI (C.), Il problema immunitario nei vegetali in rapporto con l'agricoltura. *Annali della R. Ac. d'Agricoltura di Torino*, 76, 1933.
- CARBONE (D.) et ARNAUDI (C.), Nuove esperienze sulle reazioni immunitarie delle piante. *Atti. Soc. It. Sc. Nat. Milano*, 63, 1924, p. 269-278.
- CARBONE (D.) et ARNAUDI (C.), « Ancora sulle reazioni immunitarie delle piante ». *Atti. Soc. It. Sc. Nat. Milano*, 63, 1924, p. 351-357.

- CARBONE (D.) et ARNAUDI (G.), L'immunità nelle piante. *Monogr. Ist. Sieroterap. Milanese*, Milan, 1930.
- CARBONE (D.), La Vaccinazione delle piante. — *II° Congrès Intern. Path. Comp.*, (1), p. 13.
- CARBONE (D.), Studii sulle reazione immunitarie delle piante. *Boll. Ist. Sieroterap. Milanese*, **10**, 1922, p. 261-265.
- CARBONE (D.), Le reazione immunitarie delle piante. *Riv. critica Biochem. e Terap. sperim.*, **10**, 1923, p. 257-270.
- CARBONE (D.), L'immunità nelle piante. *Giornal. Biol. e Med. Sperim.*, **2**, 1924, p. 288-291.
- CARBONE (D.), Risultati degli studii sulle reazioni immunitarie delle piante. *Boll. Soc. Bot. Ital.*, 1925, p. 63-71.
- CARBONE (D.), Ueber die aktive Immunisierung der Pflanzen, *Zentralbl. f. Bakt.*, **11**, 76, 1928-1929, p. 428-437.
- CARBONE (D.), L'immunité chez les plantes. *Congr. Intern. Microb.*, Paris, **1**, 1930, p. 627-634.
- CARBONE (D.), La vaccination des plantes. *Boll. sez. Ital. Soc. Int. Microbiol.*, **3**, 1931, p. 396-398.
- CARBONE (D.), QUARELLA, VENTURELLI, Microbi saprofiti e microbi patogeni. *Riv. di Biol.*, **1**, 1919, Fasc. 2, 3, 4.
- CARBONE (D.) et FRANÇA (C.), Studii sulle reazione immunitarie delle piante, Esperienze sol *Drosophyllum lusitanicum* Link. *Atti Soc. Lombarda di Sci. med. e Biol.*, **12**, 1923, p. 298-301.
- CARBONE (D.) et JARACH (M.), Sur le mécanisme de l'immunité acquise active chez les plantes. *Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. Microbiol.*, **3**, 1931, p. 54-56.
- CARBONE (D.), et KALAJEV (A.), Ricerche sulle vaccinazione delle piante. *Phytopathologische Zeitsch.*, **5**, 1932, p. 91-98.
- CHARRIN (A.), Pathologie animale et Pathologie végétale. *Revue de Viticulture*, 1895.
- CHAZE (J.) et SARAZIN (A.), Nouvelles données biologiques et expérimentales sur la môle, maladie du champignon de couche. *Extrait des Annales des Sc. nat. Botanique*, 10^e année, **18**.
- CHESTER (K. S.), Graft-blight : A disease of lilac related to the employment of certain understocks in propagation. *Journ. Arnold Arbor.*, **12**, 1931, p. 80-146.
- CHESTER (K. S.), Studies on the precipitin reaction in plants ; I. The specificity of the normal precipitin reaction. *Journal Arnold Arbor.*, **13**, 1932, p. 52-74.
- CHESTER (K. S.), Studies on the precipitin reaction in plants ; II. Preliminary report on the nature of the normal precipitin reaction. *Journal Arnold Arbor.*, **13**, 1932, p. 285-296.
- CHESTER (K. S.), The problem of acquired physiological immunity in plants. *The quaterly review of biology*, juin 1933, n°2, 129 et 154, n° 3, p. 275-324.
- CHESTER (K. S.), Il problema dell' immunità fisiologica acquisita nelle

- piante con Appendice. *Boll. dell' Istit. Sieroterapico Milanese*, 1934.
- CHESTER (K. S.), A serological évidence of the absolute concentration of Tobacco mosaic virus. *Science N. S.*, **82**, 2114, 1935, p. 17.
- CHESTER (K. S.), Serological evidence in plant-virus classification. *Phytopathology*, **25**, 7, 1935, p. 686-701.
- CHESTER (K. S.), The antigenicity of the plant viruses. *Phytopathology*, **7**, 1935, p. 702-714.
- CHESTER (K. S.) et WHITAKER (L. W.), Studies on the precipitin reaction in plants ; III. A biochemical analysis of the normal precipitin reaction. *Journal of Arnold Arbr.*, **24**, 14, 1933, p. 118-197.
- CLAYTON (E. E.), Toxin produced by *B. Tabacum* and its relation to host range. *Journal Agric. Res.*, **48**, 1934, p. 411-426.
- COMBES (R.), Immunité des végétaux vis-à-vis des principes immédiats qu'ils élaborent. *C. R. Ac. Sciences*, **167**, 1918, p. 275-278.
- COMES (O.), Della resistenza dei frumenti alle Rugini ed in generale delle piante alle loro cause nemiche. *Ann. scuola sup. di agric. di Portici*, **12**, Série 11, 1914.
- DEMOLON et DUMEZ, Recherches sur le rôle du bactériophage dans la fatigue des luzernières. *Ann. Agronomiques*, 5^e année, n° 1, 1935. p. 89-111.
- DUFRENOY (J.), Etudes cytologiques relatives à la résistance des plantes aux maladies. *Problèmes agricoles*, Fasc. 2, 1929.
- DUFRENOY (J.), Etudes cytologiques des rapports entre parasite et cellule végétale. *Annales de l'I. P.*, **43**, 1929, p. 218-222.
- DUFRENOY (J.), L'immunité locale, *Congrès Intern. Microb.*, Paris 1930. p. 635-641.
- DUFRENOY (J.), Modification pathologiques du métabolisme cellulaire chez les tabacs. *Ann. Epiphyties*, (4) **18**, 1932, p. 259-280, (5), p. 281-316.
- DUFRENOY (J.), L'inégale susceptibilité des *Epiceas* vis-à-vis des *Chrysomyxa rhododendri*. *C. R. Soc. Biologie*, **109**, 1932, p. 352-353.
- DUFRENOY (J.), Les problèmes physiologiques en Pathologie végétale. *Annales Agronomiques*, nouvelle série, 6^e année, n° 1, p. 65-98.
- DUFRENOY (J.) et FRÉMONT (Th.), Influence de la température sur les réactions du maïs à l'infection fusarienne. *Phytopath. Zeitsch.*, **4** (1), 1931, p. 37-41.
- EAST (E.-M.), Possible immunological reactions in plants. *Harvey lect.*, 1930-1931, p. 112-128.
- FRÉMONT (Th.), Recherche d'anticorps chez les végétaux. *Cte Rend. Soc. Biol.*, **112**, p. 998.
- FRÉMONT (Th.), Nouvelle preuve de la présence d'un anticorps lysant chez les végétaux par une méthode physiologique. *Compte Rend. Soc. Biol.*, **113**, p. 776.
- FRÉMONT (Th.), Recherche d'anticorps chez les végétaux : présence d'une sensibilisatrice. *Cte Rend. Soc. Biol.*, **113**, p. 775.

- GHEORGHIU (I.), Le cancer des plantes et l'immunité anticancéreuse. *Annales de l'I. P.*, **52**, oct. 1933, p. 535.
- GHEORGHIU (I.), Etude sur l'immunité chez les plantes. *Annales de l'I. P.*, **57**, n° 2, 1936, p. 204-212.
- GIBELLI (A.), Possono le piante produrre sostanze anti tossiche. *Boll. Soc. Ital. Biol. sperim.*, **7**, 1932, p. 1207.
- HECHT (H.), Ueber die Verwendung immunbiologischer Begriff in der Phytopathologie. *Biol. Zentralbl.*, **51** (12), 1931, p. 708-717 ; *Biol. Abstracts*, **9**, n° 2, 1935, p. 2458.
- HURSCH (C. R.), Sur la toxicité des milieux de culture des champignons phyto-pathogènes vis-à-vis des plantes. *Rev. Path. Vég. et Entom. Agr.*, **12**, 1925, p. 137-141.
- JARACH (M.), Sul meccanismo dell' immunità acquisita nelle piante. *Phytopath. Zeitsch.*, **4**, 1932, p. 315-327.
- BAILEY ELMSWELLER (J.), Thrips resistance in the Onions. *Hilgardia*, juin 1934.
- KENDALL (J.), The structure and development of certain Eriophyd galls. *Biological Abstracts*, 16576, juin-juillet 1931.
- KLOTZ (L. J.), Inhibition of enzymatic action as a possible factor in the resistance of plants to disease. *Science n. s.*, **66**, 1927, p. 631-632.
- KORINCK (J.), Intoxication par les microbes saprophytes chez les végétaux. *Preslia* (Prahá), **2**, 1922, p. 59-66.
- KORINCK (J.), Au sujet des agglutinines spécifiques chez les végétaux. *Publ. Fac. Sciences de l'Université Charles Praha*, Císlo, **10**, 1924.
- KOSTOFF (D.), Biology of the callus. *Yearbook Univ. Sofia, Fac. Agr.*, **8**, 1930, p. 297-316.
- KOSTOFF (D.), Studies on callus tissue. *American Journal of Botany*, **15**, n° 10, 1928, p. 565-576.
- KOSTOFF (D.) et KENDALL (J.), Studies on the structure and development of certain cynipid galls. *Biol. Bull. Marine Biol. Lab.* 1929, p. 402-459.
- KOSTOFF (D.), Studies on acquired immunity in plants. A Contribution to methods of investigation of reciprocal activities between graft components. *Biological Abstracts*, janv. 1933, p. 354.
- KOSTOFF (D.), Sterility transplantation and immunity. *Zemledelska misal*, Bulgarie, **1** (3), p. 35.
- KOSTOFF (D.), Inheritance of natural immunity in plants with special reference to breeding of immune varieties. *Zeitsch. für Züchtung*, **19**, (4), 1934, p. 550-576.
- KOSTOFF (D.), Acquired immunity in plants. *Genetics*, **14**, 1929, p. 37-77.
- KRITSCHESKI (J. L.), Ueber bakterielle Agglutinine und Präcipitine vegetabilischer Herkunft in Zusammenhange mit der Frage über die Fähigkeit der Pflanzen Immunitätskörper zu produzieren. *Zsch. f. Immunitätsf.*, **22**, 1914, p. 381-395.
- KRITSCHESKI (J. L.), Ueber die Eigenschaften bakterielle Agglutinine

- und Präcipiline vegetabilischer Herkunft. *Zsch. f. Immunitätsf.*, **23**, 1915, p. 331-357.
- KRITSCHESKY (J. L.), Hemolysins of vegetable origin. *The journal of exp. medicine*, **26**, n° 2, 1917, p. 669-686.
- KUNKEL, Studies on acquired immunity with tobacco and *Aucuba* mosaic. *Phytopathology*, **24**, n° 5, Mai 1934.
- KUNKEL (L. O.), Immunological studies on the three peach diseases : yellow, rosette and little peach. *Phytopathology*, **26**, n° 3.
- LASSEUR et RENAUX (M.-A.), Agglutination de différentes bactéries par le suc de citron. *Travaux du labo. de Microbiologie de la Fac. de Pharmacie de Nancy*, **7**, 1934, p. 171-191.
- LASSEUR et RENAUX (M.-A.), Recherche des agglutinines spécifiques chez quelques végétaux. *Travaux du labo. de Microbiologie de la Fac. de Pharmacie de Nancy*, **8**, 1935, p. 93-107.
- LAURENT, Recherches expérimentales sur les maladies des plantes. *Annales de l'I. P.*, **13**, 1899, p. 1-48.
- LEEMANN (A.-C.), Problem of active plant immunity. *Zentralbl. f. Bakt.*, **11**, 85, 1932, p. 360-376.
- LEPOUTRE (M.-L.), Recherches sur la transformation expérimentale de bactéries banales en bactéries parasitaires des plantes. *Annales de l'I. P.*, **16**, 1902, p. 304-312.
- LINK et HAZEL WILCOX, Precipitin ring test applied to fungi. *The botanical gazette*, **95**, n° 1, p. 1.
- LONGO (B.), CEZARIS et DEMEL, Sulla possibilita della sensibilizzazione anafilattica nei vegetali. *Atti. R. Accad. Naz. Lincei, Rendic. Série*
- MAC KINNEY, The antigenic properties of plant viruses. *R. A. M.*, **15**, 6, **1**, 1925, p. 694-698.
- Part 2, Fév. 1936, p. 118.
- MAGRASSI (F.), L'immunità locale tissulare e cellulare. *Publ. de l'Inst. Sérothérapique de Milan*, 1935.
- MAGROU (J.), L'œuvre scientifique de Maurice Nicolle. *Monographie de l'Institut Pasteur*, Paris 1934.
- MAGROU (J.), L'immunité dans la symbiose. *Annales l'I. P.*, **32**, 1918, p. 37-47.
- MAGROU (J.), L'immunité humorale des plantes. *Rev. de Pathologie vég. et Entomologie*, **11**, 1924, p. 189-192.
- MAGROU (J.), Réactions d'immunité des plantes vis-à-vis du *B. tumefaciens*. *C. R. Ac. Sc. Paris*, **100**, p. 256.
- MAGROU (J.), Immunité et hypersensibilité du *Pelargonium* vis-à-vis des réinfections par le *B. tumefaciens*. *C. R. Ac. Sciences*, **201**, 1935, p. 986.
- MAGROU (J.), Essais de culture des champignons de mycorhizes. *C. R. Ac. Sc.*, **201**, 1935, p. 1038.
- MANIL (P.), Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. *Ac. royale de Belgique, Classe des Sciences*, **15**, Fasc. 2.
- MARCHAL (E.), Le problème de l'immunité en pathologie végétale. *Ann. Gembloux*, **39** (11), 1933, p. 381-395 ; *Biol. Abst.*, 1935.

- MATSUMOTO, Antigenic properties of tobacco mosaïc juice. *Journ. Soc. Trop. Agric.*, Japan, **1**, 1929, p. 291-299.
- MATSUMOTO et SOMAZAWA, Immunological studies of mosaïc diseases.-II Distribution of antigenic substances of Tobacco mosaïc in different part of host plants. *Journ. Soc. Trop. Agric.*, Formose, 1932, p. 161-168.
- MATSUMOTO et SOMAZAWA, Effect of formolization trypsinization and heat inactivation on the antigenic properties of tobacco mosaïc juice. *Journ. Soc. Trop. Agric.*, Japan, **3**, 1931, p. 23-32.
- MELVILLE THURSTON-COOK, The relation of parasitic fungi to the contents of the cells of the host plants, Tanin, vegetable acids and the oxydizing enzyme. *Exp. station Delaware*, n° 91, p. 97.
- METALNIKOV (S.), La digestion intracellulaire et l'immunité chez les unicellulaires. *Annales de l'I. P.*, **158**, n° 6, Juin 1932.
- METCHNIKOFF, L'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, 1901.
- MONTMARTINI (L.), La pathogénèse des maladies des plantes. *Soc. Int. Microbiol. Boll. Sez. Ital.*, 1931, p. 360-395.
- MONTMARTINI (L.), Est-ce que l'on va vers une immunisation des chênes contre l'oïdium ? *Boll. Soc. Intern. Microb. sez. Ital.*, **2**, (8), 1930, p. 349-350.
- MORITZ (O.), Antikörperaktionen in Pflanzen. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, **50**, 1932, p. 100.
- MUCH (H.), Strahlende Energie n. Lipoïde. *Münch. Med. Wochensch.*, 1927, p. 1909.
- MUCH (H.), Strahlende Energie n. Lipoïde. *Münch. Med. Wochensch.*, **75**, 1928, p. 2039.
- NEMEC (B.), Immunita u rostlin. *Abmin Biological Abstracts*, **5**, n° 22.840 ; *Rozpavy Ceské Akad. Ved a Umeni*, **2**, 38, 1929, p. 1-7.
- NICOLLE (M.) et MAGROU (J.), Les maladies parasitaires des plantes. Masson, Paris 1922.
- NICOLLE (M.), Une conception générale des anticorps et de leurs effets : 3° Les anticorps normaux. *Annales de l'I. P.*, **22**, 1908, p. 237.
- NICOLLE (M.) et POZERSKI (M. E.), Une conception générale des anticorps et de leurs effets : 1° les anticorps des toxines solubles. *Annales de l'I. P.*, **22**, 1908, p. 26.
- NICOLLE (M.) et AËT (M. G.), Une conception générale des anticorps et de leurs effets : 2° les anticorps des albuminoïdes et des cellules. *Annales de l'I. P.*, **22**, 1908, p. 132.
- NICOLLE, CÉSARI et DEBAINS, Etudes sur la précipitation mutuelle des anticorps et des antigènes, premier mémoire : Sérums antisérum. *Annales de l'I. P.*, **34**, 1920, p. 150.
- NICOLLE, CÉSARI et DEBAINS, Etudes sur la précipitation mutuelle des antigènes et des anticorps, deuxième mémoire : Sérums antitoxiques. *Annales de l'I. P.*, **34**, 1920, p. 596.
- NICOLLE, CÉSARI et DEBAINS, Etudes sur la précipitation mutuelle des anticorps, troisième mémoire : Sérums anticellulaires, Valeur

- pratique de la réaction précipitante. *Annales de l'I. P.*, **34**, 1920, p. 709.
- NICOLLE (Ch.), Propositions générales pour une dénomination plus précise en français des états et faits concernant l'immunité. *Annales de l'I. P. de Tunis*, **24**, nos 3 et 4, 1935, p. 513.
- NOBÉCOURT (P.), L'anaphylaxie chez les végétaux. *Bull. Soc. Bot. France*, **1**, cinquième série, 1925, p. 1074-1098.
- PETRI, La nutrizione minerale della piante in rapporto alla predisposizione o alla resistenza di queste a cause. *Boll. R. Staz. Patol. veg.*, **10** (2), 1930, p. 121-152.
- PICADO (C.), Anticorps expérimentaux chez les végétaux. *Annales de l'I. P.*, **35**, 1921, p. 893-901.
- PRICE, Acquired immunity to ring spot in nicotiana. *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **4**, 1932, p. 359-403 ; *The Rev. of Appl. Micrology*, **12**, p. 120.
- PURDY BEALE (H.), The serum reactions as an aid in the study of filterable viruses of plants. *R. A. M.*, **61**, part 3, mars 1936, p. 197 ; *Contrib. Boyce Thompson Inst.*, **6** (3), 1934, p. 407-435.
- PURDY BEALE (H.), Serological reaction as a mean of determining the concentration of tobacco mosaic virus. *Abstr. in Phytopath.*, **23** (1), 1933, p. 4.
- PURDY BEALE (H.), Specificity of the precipitin reaction in the tobacco mosaic disease. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* **3** (4), 1931, p. 529-533.
- PURDY BEALE (H.), Immunological reactions with tobacco mosaic virus. *Journ. Exp. Med.*, **49** (6), p. 919-935.
- QUANJER (H.-M.), Un nouveau chapitre de la pathologie végétale reliant cette science à la pathologie animale. *Rev. Path. Vég. et Ent. Agr.*, **10**, 1923, p. 22-70.
- REED (H. S.) et FRÉMONT (Th.), Etude physiologique de la cellule à mycorhizes dans les racines de citrus. *Revue de cytologie et de cytophysiologie végétale*, **1**, Fasc. 4, 1935, p. 327-348.
- REED (H. S.) et FRÉMONT (Th.), Factors that influence the formation and development of mycorrhizal associations in citrus roots. *Phytopathology*, **25**, n° 6, 1935, p. 645-647.
- RICHEL (Ch.), BACHRACH (E.) et CARBOT (Y.), Etudes sur la fermentation lactique, le souvenir chez les microbes. *C. R. Acad. Sciences*, **147**, 1922, p. 842.
- RICHEL (Ch.), BACHRACH (E.) et CARBOT (Y.), Les phénomènes de l'anaphylaxie chez les microbes. *C. R. Acad. Sciences*, **172**, p. 512.
- RICHEL (Ch.), BACHRACH (E.) et CARBOT (Y.), Les alternances entre l'accoutumance et l'anaphylaxie étudiées sur le ferment lactique. *C. R. Acad. Sciences*, **172**, 1921, p. 1554.
- SALAMAN (R.), Protective inoculation against a plant virus. *Nature*, **131**, 1933, p. 468.
- SARDINA (R.-I.), Sobre la inmunidad en las plantas. *Boll. Pathol. vegetale y ent. Agrícola*, **1-10**, Madrid, 1927.

- SARDINA (R.-I.), Antibody formation in plants. *Biological abstracts*, 11.357, p. 1.
- SCHNEINER (E. C.), The haemagglutinating and precipitating properties of the bean (*Phaseolus*). *Journ. Biol. Chem.*, **11** p. 47-59.
- SCHIFF (G.) Unters. über d. Tuberkelkrankh. d. Oelbaumes. *Zbl. f. Bakt.*, **11** (15), 1905, p. 200-211.
- SEMPIO (C.), Influenza di alcuni cationi sulla recettività del ricino al *B. tumefaciens* e sullo sviluppo di quest'ultimo in coltura (agar di brodo). *Riv. Patol. Veg.*, **24** (9/10), p. 435-556 ; *Biol. Abstr.*, 1935.
- SIEDEM et TRIESCHAMNN, Ein neuer Weg zur Bekämpfung des Kartoffelkrebses. *Mitt. a. d. Deutsche Landwirtschaftsgesellschaft*, n° 2, 1926.
- SILBERSCHMIDT (K.), Studien zur Nachweis von Antikörpern in Pflanzen. *Planta*, **13**, 1931, p. 114-168.
- SILBERSCHMIDT (K.), Studien zur Nachweis von Antikörpern in Pflanzen, II., *Planta* **17**, 1932, p. 493-589.
- SILBERSCHMIDT (K.), Studien zur Nachweis von Antikörpern in Pflanzen. *Zeitsch. Wiss. Biol. Abt. Planta*, **13** (1), 1931, p. 114-168. — *Biol. Abstr.*, **8**, n° 2, p. 2886.
- STICKL (O.), Ueber das Verhalten von Typhusbazillen. *Krankheitsforschung.*, **5**, p. 25-26.
- SUKHORNKOV, Enzymatic activity of the vegetative organism and some phenomena of physiological immunity. *Biol. Abstr.*, août, sept. 1932, p. 18.334.
- THORNBERRY (H. H.), Effect of tannic acid on the infectivity of tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, **25**, (10), p. 931-937.
- TRELEASE (S. F.) et TRELEASE (H.), Susceptibility of wheat to mildew as influenced by carbohydrate supply. *Bull. Torrey Bot. Club*, **65**, 1929 p. 92. — *Biol. Abstr.*, n° 2.774, fév. 1933, p. 281.
- TZANCK (A.) et ANDRÉ (R.), L'immunité : le mot, le fait, l'idée. *Rev. d'immunologie*, **2**, n° 3, mai 1936, p. 273-287.
- VAVILOV (N.), Immunity of plants to infectious disease. *Ac. Petroskoe*, Moscou, 1919.
- VIGLIANO (I. C.), Sulla presenza nelle piante di sostanze agglutinanti, precipitanti, emolizzanti ed antiemolitiche. *Boll. dell' Ist. Sieroterapico Milanese*, **2**, 1922, p. 267-274.
- VUILLEMIN, Notions de pathologie végétale. *Pathologie générale de Bouchard et Roger*, Paris 1912.
- WAGNER (R. J.), Wasserstoffionen Konzentration und natürliche Immunität der Pflanzen. *Zbl. f. Bakt.* **11** (44), 1916, p. 708-719.
- WAGNER (R.-I.), Ueber Bakterizidstoffe in gesunden und kranken Pflanzen. *Zentralbl. Bakt.*, Abt. II (42), 1914, p. 613-624.
- WALKER, On the nature of disease resistance in plants. *Trans. Wis. Acad. Sc.*, **21**, 1924, p. 225-247.
- WARD (M.), Recent researches on the parasitism of fungi (Antibodies). *Annals of Botany*, **19**, 1905, p. 1-54.

WHITAKER (T.-W.) et CHESTER (K.-S.), Studies on the precipitin reaction in plants, IV : The question of acquired immunity due to grafting. *Amer. Journ. Bot.*, **20**, 1933, p. 297-308.

ZOJA (A.), L'immunità nelle piante. *Atti. Ist. R. Univ. Pavia*, **3**, (2), 1925, p. 15-47.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

LES BASES CHIMIQUES DE L'IMMUNITÉ.

LE RÔLE DU SYSTÈME NERVEUX DANS L'IMMUNITÉ CHEZ LES ANIMAUX.

VU :

Le Président de Thèse,

L. LAPICQUE.

VU ET APPROUVÉ :

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.
